

**Die Konstitution
oxydierter Kondensationsprodukte des
Brenztraubensäureäthylesters mit Anilin
und
über eine neue Synthese von Peptiden**

München 1957

Rudolf Heiss



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554014_0028

I. Die Konstitution oxydierter Kondensationsprodukte
des Brenztraubensäureäthylesters mit Anilin

II. Über eine neue Synthese von Peptiden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

München

vorgelegt

von

Rudolf Heiss

aus

Nürnberg

November 1957



Berichterstatter: 1. Prof. Dr. E. Dane
2. Prof. Dr. R. Huisgen

Tag der mündlichen Prüfung: 18.02.1957

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Oktober 1954 bis Juli 1957 unter Anleitung von

Frau Prof. Dr. E. Dane

im Institut für Organische Chemie der Universität München durchgeführt.

Frau Prof. Dr. E. Dane danke ich herzlichst für die wertvolle Unterstützung meiner Arbeit und für die mir stets zuteil gewordene Förderung.

Herrn Prof. Dr. R. Huisgen bin ich für das meinem Studium erwiesene Interesse und Entgegenkommen zu grossem Dank verpflichtet.

Die Konstitution oxydierter Kondensationsprodukte
des Brenztraubensäureäthylesters mit Anilin

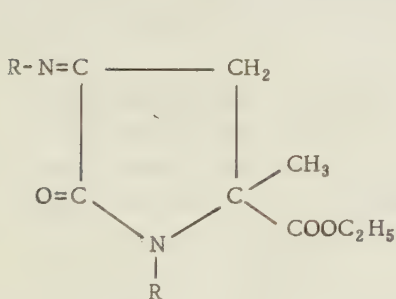
Theoretischer Teil	1
Experimenteller Teil	13
I. Reaktionen an der Säure $C_{18}H_{16}O_5N_2$	13
1.) Darstellung der Säure $C_{18}H_{16}O_5N_2$	13
2.) Überführung der Säure $C_{18}H_{16}O_5N_2$ in die Neutralverbindung $C_{17}H_{14}O_2N_2$	14
II. Reaktionen an der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}O_2N_2$	15
1.) Versuch, ein Phenylhydrazon darzustellen	15
2.) Hydrierungsversuche	15
3.) Alkalische Spaltung zu Oxalsäure und Anilin	15
4.) Oxydation mit Kaliumpermanganat in Eisessig zu Oxalsäuredianilid	16
5.) Nachweis einer C-ständigen Methylgruppe	17
6.) Ozonisation	17
7.) Bromierung	18
a) Überführung des Bromproduktes in die Methoxyverbindung $C_{18}H_{16}O_3N_2$	18
b) Überführung der Methoxyverbindung in die Diacetylverbin- dung $C_{21}H_{20}O_6N_2$	19
c) Saure Spaltung der Methoxyverbindung	20
d) Umsetzung des Bromproduktes mit Anilin zur Verbindung $C_{23}H_{19}O_2N_3$	22
e) Umsetzung des Bromproduktes mit Piperidin zur Verbindung $C_{22}H_{23}O_2N_3$	22
f) Darstellung der Hydroxyverbindung $C_{17}H_{14}O_3N_2$	23
g) Darstellung der Aminoverbindung $C_{17}H_{15}O_2N_3$	24
h) Mannich-Kondensation mit dem Bromprodukt	24
8.) Oxydation mit Selendioxyd in Eisessig	25
9.) Langsame Oxydation mit Kaliumpermanganat in Eisessig bei 60° 28	28
III. Reaktionen am Ester $C_{20}H_{20}O_5N_2$	29
1.) Darstellung des Esters $C_{20}H_{20}O_5N_2$	29
2.) Überführung des Esters $C_{20}H_{20}O_5N_2$ in die Verbindung $C_{20}H_{18}O_4N_2$	29

Über eine neue Synthese von Peptiden

Theoretischer Teil	31
Experimenteller Teil	41
I. Reaktionen des Chlorals mit Aminosäuren	41
1.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5 ...	41
2.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-4-methyl-oxazolidons-5	43
3.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-4-benzyl-oxazolidons-5	43
4.) Umsetzung von Chloral mit L-Prolin	44
5.) Versuch zur Umsetzung von Chloral mit Glutaminsäure	45
6.) Umsetzung von Chloral mit Leucin	45
II. Darstellung von Peptiden	45
1.) Darstellung von Glycyl-glycin	45
2.) Umsetzung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5 mit Glycinbenzylester zum Formyl-glycyl-glycinbenzylester ...	47
3.) Darstellung von D,L-Alanyl-glycin	48
4.) Darstellung von L-Prolyl-glycin	49
5.) Darstellung von Formyl-glycyl-glycyl-glycinäthylester	51

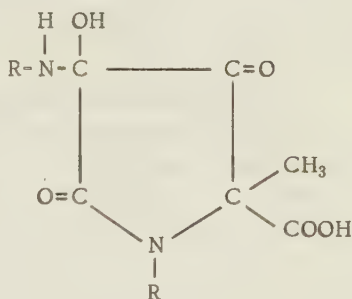
THEORETISCHER TEIL

L. J. SIMON (Lit. 1) hatte sich um die Jahrhundertwende als erster mit den Umsetzungen von Brenztraubensäureäthylester und p-Toluidin befasst und den Ester Ia der Summenformel $C_{22}H_{24}N_2O_3$ erhalten. Auf Grund seiner Zusammensetzung und Entstehung gab er ihm, jedoch ohne Beweise beigebracht zu haben, die Struktur I. Inzwischen haben H. PIRZER (Lit. 2) u. M. HERZ (Lit. 3) die Konstitutionsformel von SIMON bewiesen.



I a: $R = CH_3 - C_6H_4 -$

b: $R = C_6H_5 -$



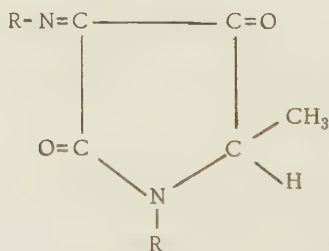
II

K. MARTIN (Lit. 4) hatte vor etwa drei Jahren versucht, durch die Oxydation mit Kaliumpermanganat der Struktur des Esters näher zu kommen. Der Ester Ia, der nach den UR-Spektren teilweise in der En-aminform vorliegt, wird durch das Oxydationsmittel leicht angegriffen. MARTIN erhielt eine Säure der Zusammensetzung $C_{20}H_{20}N_2O_5$, wobei der Ester formal zwei Hydroxylgruppen, vermindert um zwei Wasserstoffatome, aufgenommen hatte und die Carbäthoxygruppe verseift worden war. Wenn man versucht, die Reaktion an Hand der Formel von SIMON wiederzugeben, so müsste ein Derivat einer α, β -Diketosaure (II) entstanden sein. Gegen diese Annahme spricht entscheidend, dass das Oxydationsprodukt weder mit Ketonreagenzien noch mit o-Phenylendiamin reagiert. Wir waren deshalb zu der Annahme gezwungen, dass dem Oxydationsprodukt ein anderes Ringgerüst zugrundeliegt und dass während der Reaktion eine Umformung stattgefunden hat. In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, die Konstitution des neu entstandenen Ringgerüsts festzulegen.

Wie aus späteren Versuchen hervorgeht, war es zweckmässig, nicht den Ester Ia selbst, sondern sein aus Brenztraubensäureäthylester und Anilin erhaltenes Analogon Ib der Zusammensetzung $C_{20}H_{20}N_2O_3$, das in den Benzolringen keine Methylgruppe mehr enthält, zu verwenden.

Oxydiert man den Ester Ib mit Kaliumpermanganat, so erhält man eine Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$, deren Eigenschaften mit der von MARTIN dargestellten Säure völlig übereinstimmen. Sie reagiert ebenfalls nicht mit Phenylhydrazin und ist gegen Alkalien beständig. Beim Behandeln mit Säuren geht sie unter Wasserabspaltung und Decarboxylierung in eine Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$ über, die in ihren Eigenschaften mit der auf analogem Wege von MARTIN erhaltenen übereinstimmt. Die Überführung der Säure in die Neutralverbindung kann entweder durch Kochen mit konz. Salzsäure, mit konz. Schwefelsäure in der Kälte oder durch Kochen in Eisessig, dem wenig verdünnte Säure zugesetzt worden ist, durchgeführt werden.

Unter Zugrundelegung der Konstitution II käme der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$ die Struktur III zu. Zu den Formeln II und III stehen folgende zwei Experimentalbefunde in Widerspruch: Die nach III zu erwartende Rückbildung der Hydratform (II) wurde nicht gefunden. Die Neutralsubstanz ergibt — ebenso wie die freie Säure — kein Dinitrophenylhydrazon.



III

Wir befassten uns hauptsächlich mit der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$, weil das vereinfachte Molekül eine leichtere Konstitutionsermittlung erwarten liess.

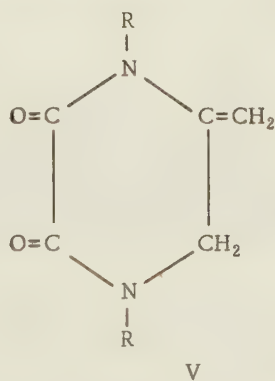
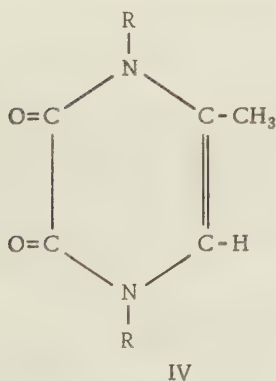
Im Gegensatz zur Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ ist die Neutralverbindung gegen Alkalien unbeständig. Sie wird durch methanolische Kalilauge bei Raumtemperatur in fast quantitativer Ausbeute in je 1 Mol Oxalsäure und Anilin gespalten. Die Spaltung in Oxalsäure beweist, dass diese im Molekül enthalten oder vorgebildet sein muss. Einen weiteren Einblick in die Struktur der Neutralverbindung ergab die

Oxydation mit Kaliumpermanganat. Dabei erhielten wir in sehr guter Ausbeute 1 Mol Oxalsäuredianilid und 1 Mol CO_2 . Der Befund zeigt, dass die beiden Benzolringe nicht substituiert sein können und dass ausserdem die zwei Anilinreste mit der Oxalsäuregruppierung verbunden sein müssen. Diese Ergebnisse lassen sich mit der Formel III nicht oder nur unter Zwang in Einklang bringen.

Nachdem die Oxalsäuredianilidgruppierung festgelegt war, blieb noch die Lage der restlichen drei C- und vier H-Atome ungeklärt.

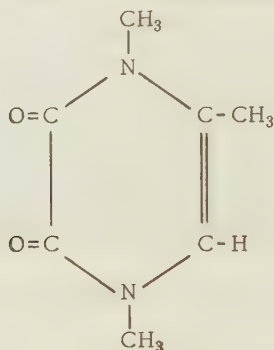
Eine Zerewitinoff-Bestimmung lieferte keinen aktiven Wasserstoff. Im UR-Spektrum findet sich keine NH-Bande. Es müssen also die beiden Stickstoffatome mit den noch zur Verfügung stehenden Kohlenstoffatomen verknüpft sein, das heisst die Oxalsäuredianilidgruppierung muss in unserer Verbindung zu einem Ring geschlossen sein. Die geringe Anzahl der noch vorhandenen Wasserstoffatome erfordert die Annahme einer Doppelbindung.

Nach diesen Überlegungen kamen folgende zwei Formeln in Betracht:



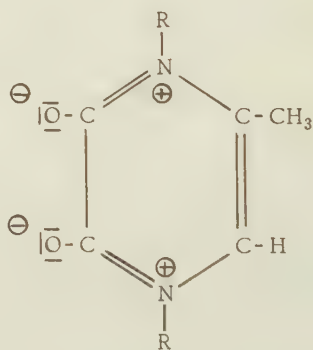
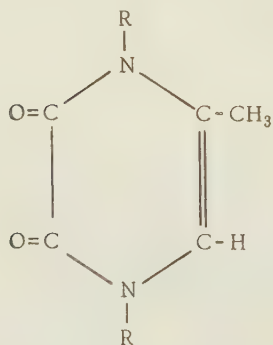
Von diesen liess sich die unwahrscheinlichere Konstitution V durch den Verlauf der Ozonisierung ausschliessen. Wir erhielten in etwa 60proz. Ausbeute Oxalsäuredianilid; die erforderliche Doppelbindung muss also im Ring sein. Wir konnten weder Formaldehyd noch Triketopiperazin auffinden, die beide sehr leicht nachzuweisen wären. Formel IV haben wir durch den Nachweis einer C-ständigen Methylgruppe gesichert, der nach der Methode von BARTHEL-LA FORGE (Lit. 5) durchgeführt wurde. Eine weitere Stütze der Formel IV ist der negative Verlauf der Hydrierungsversuche. Verbindungen des Typus V nehmen dagegen stürmisch Wasserstoff auf (Lit. 6). Damit bleibt für die Neutralverbindung $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ die Struktur eines 2,3-Diketo-5,6-dehydro-6-methyl-piperazins.

Bei Durchsicht der Literatur nach Substanzen mit dem Ringgerüst IV fanden wir eine Verbindung der Struktur VI, die von PRINCIVALE u. GASTALDI (Lit. 7) auf einem unübersichtlichen Weg dargestellt worden war. Die Autoren haben leider keine näheren Angaben über die Eigenschaften gemacht; ein Vergleich mit der Verbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$ war deshalb nicht möglich.



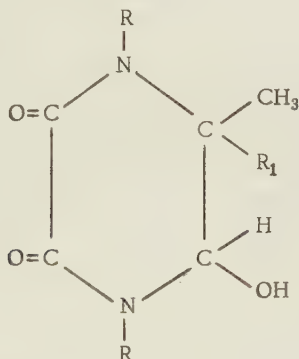
VI

Die für die Neutralverbindung gefundene Konstitution IV gibt auch eine Erklärung für das Verhalten der Verbindung gegenüber Säuren und Basen. Die grosse Beständigkeit gegen konz. Säuren wird durch das im Ringgerüst vorliegende pseudoaromatische System verständlich:



Die in der mesomeren Grenzform geforderte stärkere Aufrichtung der Carbonylbindung kommt in den UR-Spektren zum Ausdruck. In den Spektren der Neutralverbindung IV und deren Hydroxylderivat $C_{17}H_{14}N_2O_3$ (Seite 5) liegt die Carbonylbande der Säureamidgruppe bei 6.18 bzw. bei 6.15 μ .

Als Vergleich seien die Spektren der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ (VII a) (Seite) und der oxydierten Verbindung C (2) (VII b) angeführt. In beiden Verbindungen ist wohl das Diketopiperazingerüst enthalten, aber die Möglichkeit zur Ausbildung des pseudoaromatischen Systems nicht gegeben. Die Carbonylbande der Säureamidgruppe liegt in diesen Spektren bei 6.0μ .



VII a: $R_1 = COOH$

b: $R_1 = H$

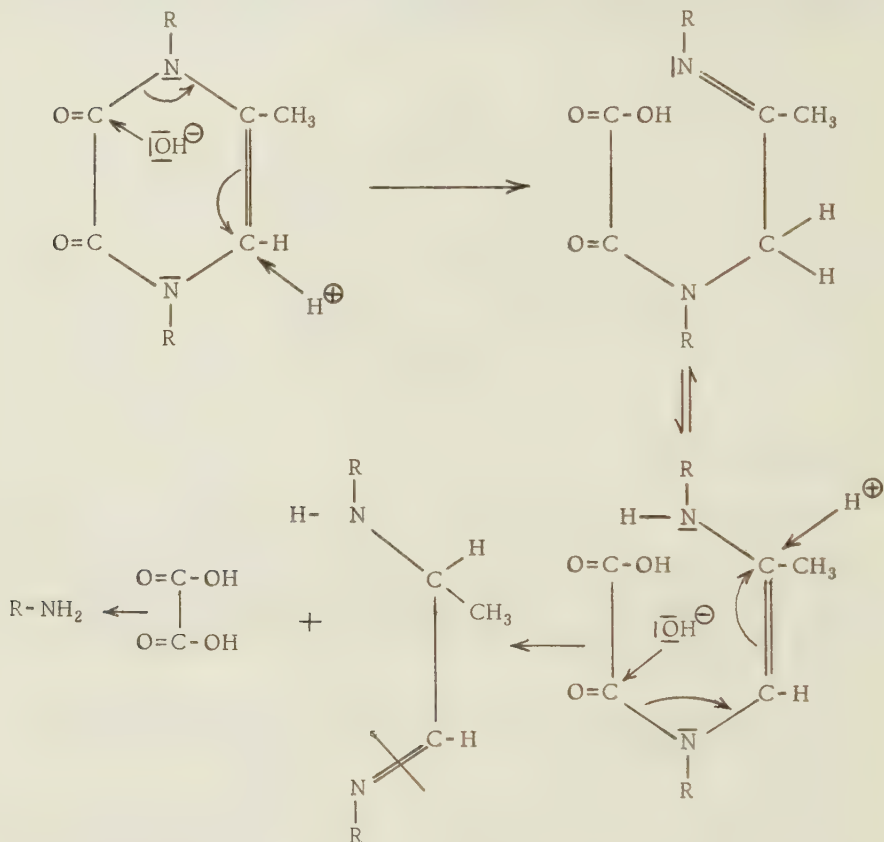
Die auffallend leichte Spaltbarkeit der Verbindung durch Alkalien ist nach Formel IV gut verständlich. Bei Einwirkung der Base kann das Elektronenpaar der Säureamidbindungen jeweils von der Doppelbindung mesomer aufgenommen werden (s. Schema S. 6).

Da bei dieser Spaltung ein En-diamin zu erwarten war, so ist verständlich, dass neben Oxalsäure und Anilin kein weiteres Spaltprodukt isoliert werden konnte.

Wir befassten uns nun mit der Bromierung der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$, einmal um das Verhalten des pseudoaromatischen Systems gegenüber Brom festzustellen, zum anderen um die Verbindung in eine höhere Oxydationsstufe überzuführen.

Dadurch hofften wir, die Bildung eines En-diamins bei Spaltungsreaktionen zu vermeiden. Wir setzten in Eisessig mit zwei Äquivalenten Brom um und erhielten unter Bromwasserstoffentwicklung eine Verbindung der Summenformel $C_{17}H_{13}N_2O_2Br$. Das Brom ist in dieser Verbindung sehr beweglich. Die Umsetzung mit Anilin und Piperidin führte zu den Verbindungen der Zusammensetzung $C_{23}H_{19}N_3O_2$ und $C_{22}H_{23}N_3O_2$. Durch Umkristallisieren aus Wasser oder durch Behandeln mit wässrigem Silberoxyd trat Verseifung zum Alkohol $C_{17}H_{14}N_2O_3$

ein. Schon beim Stehen in kaltem Methanol wird das Brom gegen eine Methoxygruppe ausgetauscht. Die Probe auf Allylbromid bzw. bewegliches Brom nach ZIEGLER (Lit. 8) verlief positiv.

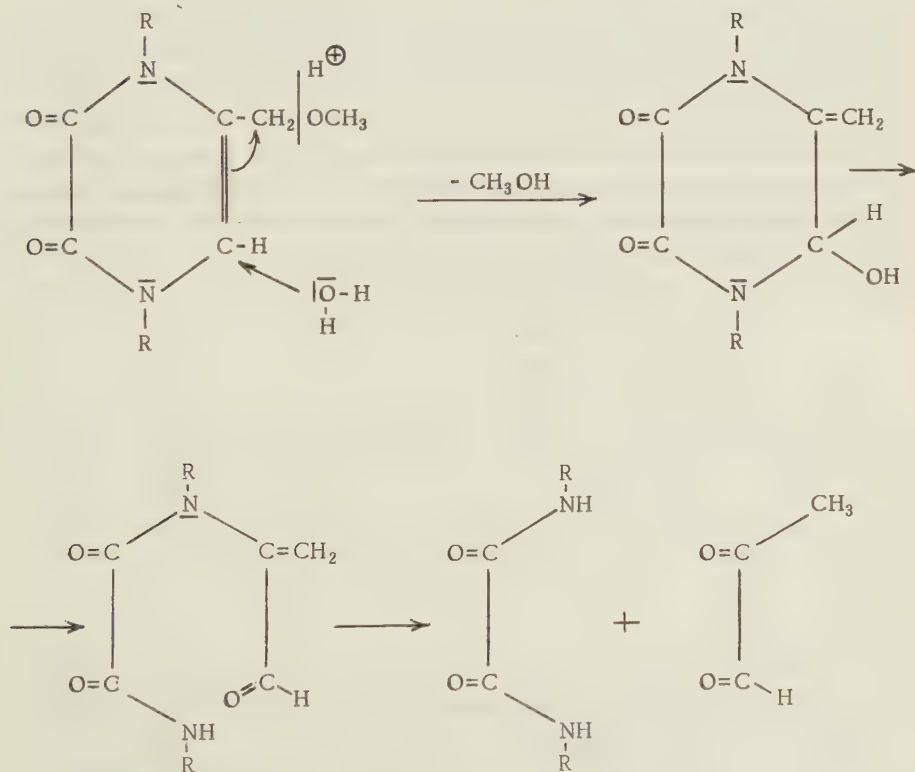


Diese Reaktionsfähigkeit lässt sich mit den beiden möglichen Stellungen des Broms vereinbaren. Wenn das Brom in die Methylgruppe eingetreten ist, ist seine Beweglichkeit durch die Allylstellung, verstärkt durch den mesomeren Effekt des Stickstoffs, bedingt. Hat hingegen das Brom den Ring selbst substituiert, so wäre die entstandene Verbindung mit α -Brompyrazinen vergleichbar, in denen das Brom ebenfalls leicht versetzbar ist. Die Entscheidung ergab sich aus dem negativen Verlauf der Methylgruppenbestimmung. Damit war bewiesen, dass das Brom in die Methylgruppe eingetreten war.

Das Bromprodukt ist, ebenso wie die Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$, noch ein En-diamin. Durch dessen alkalische Spaltung wäre also kein beständiges Abbauprodukt zu erwarten. Anders lag der Fall, wenn das Bromprodukt durch Säuren spaltbar war. Hier würde die Aufspaltung des Moleküls zu stabilem Oxalsäuredianilid und zu einem Produkt führen, das die Oxydationsstufe eines En-triols besitzt. Dabei wären die Versuchsbedingungen für eine Isomerisierung des letzteren zu einer beständigen Carbonylverbindung geeignet.

Der Versuch der sauren Spaltung wurde an der Methoxyverbindung durchgeführt, die aus dem Bromprodukt durch Umkristallisieren aus Methanol leicht rein darzustellen ist. Nach kurzem Kochen in Eisessig/4n Schwefelsäure wurde Oxalsäuredianilid und Methylglyoxal, allerdings nur in 9proz. Ausbeute, isoliert. Durch längeres Kochen konnte die Ausbeute nicht verbessert werden, da Verharzung eintrat.

Folgender Reaktionsverlauf ist denkbar:



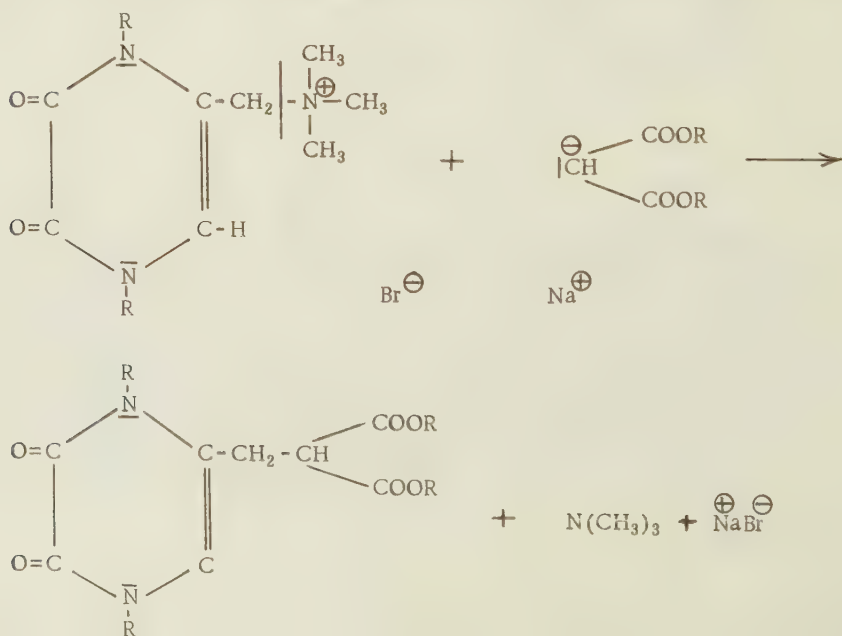
Zum gleichen Ergebnis kommt man, wenn man annimmt, dass die Spaltung zunächst zum Dioxyaceton bzw. Glycerinaldehyd führt. Dioxyaceton geht bei der Destillation aus verdünnter Schwefelsäure in Methylglyoxal über (Lit. 9). Ebenso sind in saurer Lösung Übergänge von Glycerinaldehyd in Methylglyoxal bekannt (Lit. 10).

Neben Oxalsäuredianilid und Methylglyoxal erhielten wir bei der Spaltung noch zwei weitere Verbindungen der Zusammensetzung $C_{19}H_{16}N_2O_4$ und $C_{21}H_{20}N_2O_6$. In beiden muss das Ringgerüst des Diketopiperazins noch enthalten sein, denn bei einer Ringöffnung wäre unter unseren Versuchsbedingungen am acylierten En-ol-en-amin eine Verseifung eingetreten.

Aus der Summenformel und nach den Werten der Acetylbestimmung ergibt sich, dass in der Verbindung $C_{19}H_{16}N_2O_4$ lediglich ein Austausch der Methoxy- gegen die Acetylgruppe erfolgt ist. Dieser verhältnismässig leichte Austausch der Methoxygruppe ist durch die Allylstellung verständlich.

Die Verbindung $C_{21}H_{20}N_2O_6$ unterscheidet sich von der Verbindung $C_{19}H_{18}N_2O_4$ in ihrer Zusammensetzung durch den Mehrgehalt von einem Mol Essigsäure. Dies konnte durch eine Acetylbestimmung bestätigt werden. Die Art der Addition des zweiten Moleküls Essigsäure konnten wir bis jetzt nicht klären.

Das Bromprodukt und die von ihm abgeleiteten Verbindungen besitzen ein dem Gramin verwandtes System. Also war das durch Umsetzung des Bromproduktes mit Trimethylamin erhaltene quaternäre Ammoniumsalz einer Snyder-Synthese mit Natrium-malonester zugänglich:

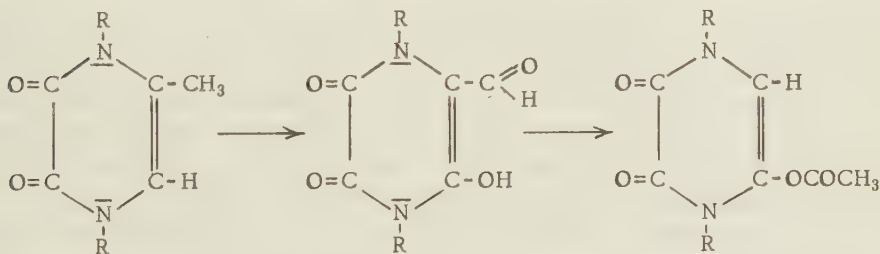


Da für die Snyder-Synthese wie für den angenommenen Mechanismus der sauren Spaltung der Methoxyverbindung ein stabilisiertes Carboniumion erforderlich ist, bedeutet das Gelingen der Synthese eine Stütze für diesen Spaltungsmechanismus.

In der Neutralsubstanz sind nach Konstitution IV die Wasserstoffatome der Methylgruppe durch die Doppelbindung aktiviert. Es lag daher nahe, die Verbindung einer Oxydation mit Selendioxyd zu unterwerfen und so einen weiteren Einblick in die Reaktionsweise dieses Systems zu gewinnen.

In siedender alkoholischer Lösung reagierte die Neutralverbindung nicht mit dem Reagenz, dagegen trat in siedendem Eisessig augenblicklich Reaktion ein. Dabei wurden zwei Substanzen der Zusammensetzung $C_{20}H_{18}N_2O_6$ und $C_{33}H_{24}N_4O_6$ erhalten. Die Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ liess sich auch durch langsame Oxydation mit Kaliumpermanganat bei 60° in Eisessig darstellen.

Die Verbindung $C_{20}H_{18}N_2O_6$ enthält nach der Acetylbestimmung zwei Mol Essigsäure. Beim Umkristallisieren aus Wasser verliert sie ein Mol Essigsäure und geht in eine Verbindung $C_{18}H_{14}N_2O_4$ über. Die Zusammensetzung der Verbindung $C_{18}H_{14}N_2O_4$ liess vermuten, dass die Methylgruppe im Verlauf der Oxydation abgespalten wurde und gleichzeitig eine durch das Lösungsmittel acetylierte Hydroxylgruppe in das Molekül eingetreten ist. Bei der Acetylbestimmung wurde ein Mol Essigsäure erhalten. Eine Methylgruppenoxydation ergab keine zusätzliche Essigsäure. Damit ist gezeigt, dass der Angriff der Selendioxydoxydation tatsächlich an der Methylgruppe der Neutralsubstanz erfolgt ist. Es ist vorstellbar, dass bei der Reaktion intermediär die Oxydationsstufe einer β -Aldehydsäure entsteht, die die Säurespaltung einer β -Ketosäure erleidet.



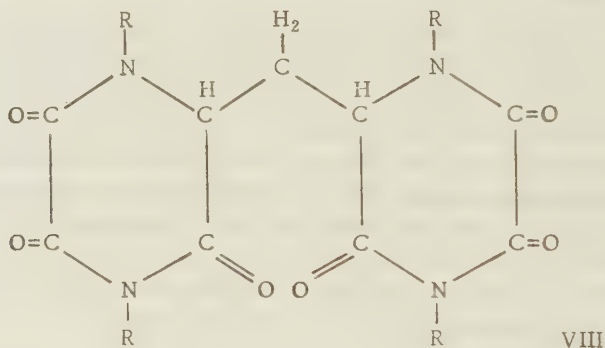
Bei der Reaktion wurden nur Spuren von Formaldehyd und CO_2 gefunden. Der Aldehyd kann also nur in Form von Ameisensäure abgespalten worden sein.

Das zweite mit Selendioxyd erhaltene Oxydationsprodukt enthält ebenfalls keine Methylgruppe. Die Verbindung besitzt weder basische noch saure Eigenschaften. Beim Behandeln der Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ mit 2n Natronlauge

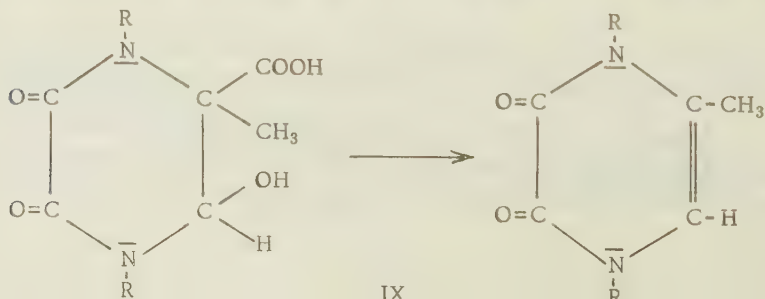
entsteht eine Säure $C_{33}H_{30}N_4O_9$, die bei 135° decarboxyliert. Die Bestimmung des Äquivalentgewichtes dieser Säure durch Titration mit 0.1n Natronlauge ergab ungefähr die Hälfte des Molekulargewichtes. Nach der Analyse hatte die Säure ein Mol Wasser mehr aufgenommen, als zur Öffnung von zwei Säureamidgruppen erforderlich ist. Vermutlich liegt dieses als Kristallwasser vor. Um die Konstitution der Verbindung als Dicarbonsäure zu sichern, versuchten wir deren Ester darzustellen. Die Einwirkung von Diazomethan ergab jedoch wieder die ursprüngliche Verbindung zurück.

Im UR-Spektrum der Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ findet sich keine OH- und keine NH-Bande. Die Bande der Säureamidgruppe ist nicht ins Langwellige verschoben.

Mit den experimentellen Ergebnissen stimmt für die Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ Formel VIII am besten überein.



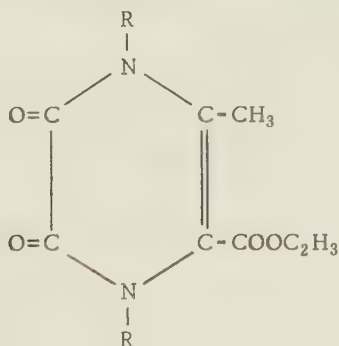
Durch die bisherigen Reaktionen ist die Struktur der Verbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$ als ein Derivat des Diketodehydropiperazins festgelegt. Damit ist gleichzeitig eine Aussage über das erste aus dem Ester Ib erhaltene Oxydationsprodukt, die Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$, möglich. Die Säure steht in direkter Beziehung zur Neutralverbindung; sie geht unter Wasserabspaltung und Decarboxylierung in die Neutralverbindung über. Dem Übergang wird am besten Formel IX gerecht, die inzwischen von L. SCHIENER (Lit. 11) u. M. HERZ (Lit. 3) gesichert worden ist.



Wie schon erwähnt wird die Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ durch Laugen — selbst durch 25proz. methanolische Kalilauge — nicht angegriffen; der Grund, den wir für die leichte alkalische Spaltbarkeit der Neutralverbindung angegeben haben, liegt hier nicht vor.

An einem Beispiel sollte noch der Einfluss von Substituenten im Diketopiperazinring auf die Reaktionsfähigkeit der Methylgruppe untersucht werden. Hierzu stand die von SCHIENER dargestellte Verbindung $C_{22}H_{22}N_2O_4$ der Konstitution Xa zur Verfügung. Um die Reaktionsmöglichkeit der am Benzolring sitzenden Methylgruppen auszuschliessen, stellten wir die Verbindung $C_{20}H_{18}N_2O_4$ der Konstitution Xb dar. Sie entsteht durch Behandeln des Äthylesters der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ mit konz. Schwefelsäure, wobei nach SCHIENER eine Methylgruppenwanderung eintritt. Durch eine BARTHEL-La FORGESche Bestimmung wurde das Vorhandensein einer Methylgruppe bewiesen. Die Verbindung Xb unterscheidet sich in wesentlichen Reaktionen von der Neutralverbindung IV.

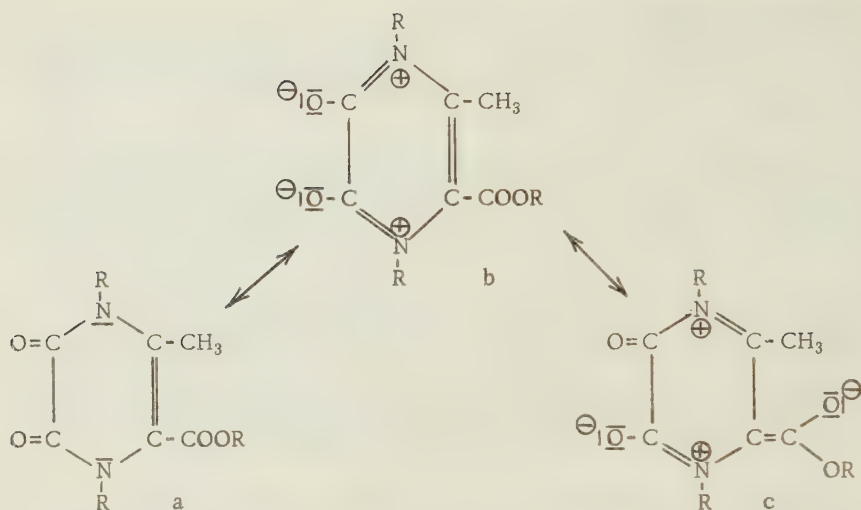
Beim Kochen der Verbindung in Eisessig mit Selendioxyd wurde keine Selenabscheidung beobachtet. Die Neutralverbindung IV reagierte unter diesen Bedingungen sofort. Auch trat — im Gegensatz zur Neutralverbindung IV — in Eisessig keine Bromierung ein.



X a: $R = CH_3C_6H_4 -$

b: $R = C_6H_5 -$

Die Inaktivierung der Methylgruppe in der Verbindung ist durch folgende Mesometiebeziehung zu erklären:



Im pseudoaromatischen Grenzzustand b treten zwei negative Ladungen an benachbarten Carbonylgruppen auf. Das Molekül wird daher bestrebt sein, den Grenzzustand c auszubilden, in dem die beiden Ladungen sich in einem grösseren Abstand voneinander befinden.

Der Wegfall des pseudoaromatischen Zustandes ist auch aus dem UR-Spektrum zu ersehen (Lit. 11). Das Maximum der Säureamidbande liegt in der Verbindung bei 6.0 μ ; es ist also nicht nach längeren Wellen hin verschoben.

EXPERIMENTELLER TEIL

I. Reaktionen an der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$

1.) Darstellung der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$.

In Anlehnung an die Vorschrift von K. MARTIN (Lit. 4) wurden 10 g des Esters Ib in einem Liter Aceton aufgelöst und in kleinen Anteilen mit 100 ccm (= 4 Äquivalente) einer gesättigten Kaliumpermanganatlösung (63.8 g/1 Ltr. Wasser) versetzt. Nach Beendigung der Oxydation, die etwa zwei Tage erforderte, wurde vom Braunstein abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingeeengt, wobei sich das Oxydationsprodukt abschied. Es wurde von nicht umgesetztem Ausgangsmaterial durch Auflösen in 2n Natronlauge und Ansäuern mit 2n Salzsäure abgetrennt. Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisieren aus Alkohol Wasser. Die Verbindung kristallisiert in rechteckigen, dünnen Blättchen, die bei 180° unter Decarboxylierung schmelzen. Die Ausbeute betrug 6.61 g (65% d.Th.). Die Säure ist sehr gut löslich in Alkohol, Essigester und Eisessig, wenig löslich in Benzol und Äther.

Die Analyse ergab:

3.667 mg Substanz: 1.538 mg H_2O 8.543 mg CO_2

4.021 mg Substanz: 0.316 ccm N_2 (24° 714 mm)

$C_{18}H_{16}N_2O_5$ (340)

Ber.: C 63.52 H 4.70 N 8.27

Gef.: C 63.58 H 4.69 N 8.48

Titration mit 0.1n Natronlauge (Phenolphthalein):

41.2 mg Substanz verbrauchen 1.232 ccm 0.1n NaOH

Äquivalentgewicht ber. 340

gef. 334

Kocht man die Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ kurze Zeit in Eisessig, dem einige Tropfen 2n Schwefelsäure zugefügt worden sind, so tritt CO_2 -Entwicklung ein. Ebenso wird CO_2 unter starkem Aufbrausen abgespalten, wenn man die Verbindung in konz. Schwefelsäure auflöst.

Gegenüber Laugen ist die Säure recht beständig. Sie wurde selbst nach 14tägigem Stehen in 2n Natronlauge nicht verändert. Mit 5proz. methanolischer Kalilauge trat bei Raumtemperatur in 3 Tagen ebenfalls keine Reaktion ein.

Erst mit 25proz. methanolischer Kalilauge wurde beim Erhitzen auf 60° eine geringfügige Spaltung erreicht. Es konnten kleine Mengen Oxalsäure und Anilin nachgewiesen werden (vgl. Seite 15). Das eingesetzte Material wurde zu 80% zurück erhalten.

Mit Diazomethan liess sich die Säure in einen Ester vom Schmelzpunkt 228° überführen. Der Ester schied sich aus alkoholischer Lösung in rechteckigen Blättchen ab.

Die Säure reagierte in alkoholischer Lösung nicht mit einer schwefelsauren Lösung von Dinitrophenylhydrazin.

In alkalischer Lösung (2n NaOH) reduziert die Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ Kaliumpermanganat zur Oxydationsstufe des Manganats.

2. Überführung der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ in die Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$.

5 g der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ wurden in 30 ccm kalter konz. Schwefelsäure gelöst und die Lösung nach etwa zwei Stunden auf Eis gegossen. Die ausgeschiedene pulvrige Substanz wurde abfiltriert und solange mit Wasser gewaschen bis dieses keine saure Reaktion mehr zeigte. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 3.8 g (95% d.Th.). Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisieren aus Alkohol. Die Substanz schmolz im Kapillarröhrchen bei 267°. Im Kofler-Schmelzpunktsapparat liegt die Verbindung zunächst mikrokristallin vor. Bei 200° wachsen rechteckige Kristalle heraus, die bei 272° schmelzen. Die Verbindung ist in Eisessig leicht, in Essigester und Chloroform leicht und in Äther praktisch nicht löslich.

Die Analyse ergab:

3.761 mg Substanz: 1.721 mg H_2O 10.088 mg CO_2

4.325 mg Substanz: 0.416 ccm N_2 (23° 706 mm)

$C_{17}H_{14}N_2O_2$ (278)

Ber.: C 73.38 H 5.04 N 10.07

Gef.: C 73.18 H 5.11 N 10.30

Das Molekulargewicht konnte wegen der Unlöslichkeit der Verbindung in Kampfer nicht bestimmt werden. Eine Zerewitinoff-Bestimmung ergab keinen aktiven Wasserstoff. Mit einer schwefelsauren Lösung von Dinitrophenylhydrazin reagierte die Verbindung nicht. Die Substanz besitzt neutrale Eigenschaften; sie ist in Säuren und Laugen unlöslich.

II. Reaktionen an der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$

1.) Versuch ein Phenylhydrazon darzustellen.

Eine Lösung von 100 mg der Verbindung in 30 ccm Alkohol wurde mit 100 mg Phenylhydrazin versetzt und 30 Minuten am Rückfluss gekocht. Nach dem Abziehen des Alkohols schied sich die unveränderte Verbindung fast quantitativ wieder ab.

2.) Hydrierungsversuche.

Die Hydrierungsversuche wurden in Essigester und Eisessig mit Platinoxid, ferner in Eisessig mit Palladium-Tierkohle durchgeführt. In allen drei Versuchen war nach drei Tagen noch kein Wasserstoff aufgenommen worden. Das Ausgangsmaterial liess sich quantitativ zurückgewinnen.

3.) Alkalische Spaltung zu Oxalsäure und Anilin.

1 g der Neutralverbindung $C_{17}H_{14}N_2O_2$ wurde in 30 ccm 10proz. methanolischer Kalilauge gelöst und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung färbte sich unter Abscheidung eines feinkristallinen Niederschlages schwach gelb. Der Niederschlag wurde abgetrennt und die alkalische Lösung mit verdünnter Schwefelsäure nahezu neutralisiert. Hierbei schieden sich grosse Mengen Kaliumsulfat aus, die mit Schmieren vermischt waren. Der Methylalkohol wurde im Vakuum unter schwachem Erwärmen abgezogen, wobei sich nochmals Schmieren abschieden (insgesamt 0,2 g).

Die noch alkalische Lösung wurde mehrmals mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Schicht abgetrennt. Nach dem Abziehen des Äthers blieb ein bräunliches Öl zurück, das sich als Anilin erwies. Zum Nachweis wurde ein Teil des Öls mit Acetylchlorid umgesetzt, wobei ein Reaktionsprodukt vom Fp. 114° erhalten wurde. Der Mischschmelzpunkt mit Acetanilid zeigte keine Depression. Die quantitative Bestimmung des Anilins erfolgte in einem neuen Versuch mit ätherischer Salzsäure. Es wurden 442 mg Anilin-hydrochlorid (95,3% der Theorie, berechnet auf 1 Mol Anilin) erhalten.

Der oben entstandene kristalline Niederschlag wurde in verdünnter Essigsäure gelöst und die Lösung unter Zusatz von Natriumacetat mit 2 g Calciumchlorid (in 10 ccm Wasser gelöst) versetzt. Der nach zwölf Stunden abgesaugte und bei 105° getrocknete Niederschlag erwies sich nach folgenden Reaktionen als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$. Die Ausbeute betrug 498 mg (94,7% der Theorie).

Titration mit 0.1n Kaliumpermanganatlösung:

89.27 mg Substanz verbrauchen 12.16 ccm 0.1n KMnO_4
für $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ berechnet: 12.22 ccm 0.1n KMnO_4

Überführung in Calciumsulfat:

24.76 mg Substanz ergaben beim Abbrauchen mit Schwefelsäure 22.98 mg CaSO_4

Ber.: Ca 27.43%

Gef.: Ca 27.32%

Überführung in Oxalsäure:

Die Substanz wurde aus konz. Salzsäure und anschliessend aus Wasser umkristallisiert. Die erhaltenen Kristalle schmolzen bei 106° . Der Mischschmelzpunkt mit Oxalsäure ergab keine Depression.

Bei einem neuen Ansatz des Versuches wurde der Methylalkohol in neutralem bis schwach saurem statt in alkalischem Medium weggenommen. Auch so konnte die Bildung von Schmierem nicht verhindert werden.

Die Spaltung der Neutralverbindung $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ kann auch mit Bariumhydroxyd bereits in der Kälte durchgeführt werden, wobei allerdings eine Reaktionszeit von zwei Wochen erforderlich ist.

Auch unter diesen milderen Bedingungen konnten neben Anilin und Bariumoxalat lediglich Schmierem erhalten werden.

4.) Oxydation mit Kaliumpermanganat in Eisessig zu Oxalsäuredianilid.

1 g der Neutralverbindung wurde in 50 ccm Eisessig gelöst und in einem Dreihalskolben unter Rühren mit kleinen Anteilen einer Lösung von 0.5 g Kaliumpermanganat (= 4 Äquivalente) in 150 ccm stabilisiertem Eisessig versetzt. Im Verlaufe von sechs Stunden war das gesamte Kaliumpermanganat reduziert. Das bei der Reaktion gebildete Kohlendioxyd wurde mit einem Stickstoffstrom in eine Waschflasche mit Bariumhydroxyd übergeführt. Die Ausbeute an Bariumcarbonat betrug 578 mg (80% d.Th.).

Der Eisessig wurde im Vakuum weitgehend abgezogen. Die ausgeschiedenen Kristalle wurden abfiltriert, aus Benzol umkristallisiert und anschliessend im Vakuum sublimiert. Sie schmolzen bei 250° und wurden durch Analyse und Mischschmelzpunkt als Oxalsäuredianilid identifiziert. Die Ausbeute betrug 682 mg (79% d.Th.).

Die Analyse ergab:

3.928 mg Substanz: 1.710 mg H₂O 10.091 mg CO₂

3.571 mg Substanz: 0.400 ccm N₂ (27°/719 mm)

C₁₄H₁₂N₂O₂ (236)

Ber.: C 70.00 H 5.00 N 11.64

Gef.: C 70.10 H 4.87 N 12.06

5.) Nachweis einer C-ständigen Methylgruppe

Zum Nachweis wurde die von BARTHEL-La FORGE (Lit. 5) vereinfachte Methode von KUHN-d ORSA angewendet, bei der die C-ständige Methylgruppe mit Chromsäure zu Essigsäure oxydiert wird. Dazu wurden etwa 30 mg der Neutralverbindung in den Kolben einer Acetylbestimmungsapparatur eingewogen und mit 5 ccm der kalten Oxydationslösung versetzt. Diese wurde hergestellt durch Hinzufügen von 20 ccm konz. Schwefelsäure zu einer Lösung von 16.8 g Chromsäureanhydrid in 100 ccm Wasser. Das Gemisch wurde 1-2 Stunden unter Rückfluss bei schwachem Sieden gehalten. Nachdem der Kühler sorgfältig mit destilliertem Wasser von Säure freigewaschen war, wurden 7 g Magnesiumsulfat hinzugefügt und die Essigsäure mit Wasserdampf am absteigenden Kühler abdestilliert. Das Destillat, etwa 50 ccm, wurde zunächst mit Bariumchlorid auf Abwesenheit von Schwefelsäure geprüft und dann mit 0.3n Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert.

Ergebnisse:

28.0 mg Substanz verbrauchen 2.52 ccm 0.3n NaOH

31.6 mg Substanz verbrauchen 2.70 ccm 0.3n NaOH

Für eine Methylgruppe ber.: 15.43% Acetyl

Gef.: 12.91% Acetyl

Gef.: 12.26% Acetyl

6.) Ozonisation

In eine Lösung von 1 g der Neutralverbindung in 50 ccm Eisessig wurde 45 Minuten lang ein Luftstrom mit 8 Volumprozent Ozon, bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 0.3 ccm pro Sekunde, eingeleitet (= 1 Äquivalent Ozon). Darauf wurde die Lösung der Wasserdampfdestillation unterworfen. Im Rückstand verblieben 514 mg Oxalsäuredianilid (59.6% der Theorie). Im Destillat konnte mit Dinitrophenylhydrazin kein Formaldehyd nachgewiesen werden. Es bildeten sich lediglich geringe Mengen eines Dinitrophenylhydrazons vom Fp. 300°.

7.) Bromierung

2 g der Neutralverbindung wurden in der Hitze in 40 ccm Eisessig gelöst, die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 13 ccm einer 1n Bromlösung (in Eisessig) versetzt. Diese Brommenge entspricht 2 Äquivalenten mit einem 20proz. Überschuss. Das Brom wurde augenblicklich unter starker Bromwasserstoffentwicklung entfärbt. Nach etwa einer Stunde trübte sich die Lösung und bis zum nächsten Tag schieden sich grosse, rechteckige Kristalle ab. Diese wurden abfiltriert und die Lösung bis auf 5 ccm eingeeengt. Dabei schieden sich erneut Kristalle der gleichen Substanz ab. Der Schmelzpunkt der Substanz lag nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol bei 198-200°. Die Ausbeute betrug 2.15 g (82% der Theorie). Das Bromprodukt ist ohne Veränderung gut in Benzol und Chloroform, mässig in Tetrachlorkohlenstoff und kaum in Äther löslich.

Die Analyse ergab:

4.487 mg Substanz:	1.477 mg H ₂ O	9.423 mg CO ₂
3.557 mg Substanz:	0.266 ccm N ₂	(25°/716 mm)
4.127 mg Substanz:	2.132 AgBr	

$C_{17}H_{13}N_2O_2Br$ (367)

Ber.:	C	57.14	H	3.64	N	7.84
Gef.:	C	57.31	H	3.68	N	8.07
Ber.:	Br	22.38				
Gef.:	Br	21.98				

Das Brom ist in der Verbindung locker gebunden. Löst man das Bromprodukt z.B. in einer acetonischen Natriumjodidlösung auf, so bildet sich sofort ein Niederschlag von Natriumbromid (Lit. 12). Die Verbindung reagiert auch heftig mit Cyclohexylamin (Lit. 8). Beim Auflösen des Bromproduktes in kaltem Methanol kristallisiert aus der Lösung eine Verbindung aus, in der das Brom durch die Methoxygruppe ersetzt worden ist.

a) Überführung des Bromproduktes $C_{17}H_{13}N_2O_2Br$ in die Methoxyverbindung $C_{18}H_{16}N_2O_3$.

Zur Darstellung der Methoxyverbindung wurde 1 g der Bromverbindung in 75 ccm Methanol gelöst, kurz aufgeköcht und das überschüssige Methanol im Vakuum bei Raumtemperatur bis auf 10 ccm abgezogen. Aus der Lösung kristallisierte die Methoxyverbindung in sehr schön ausgebildeten räumlichen Rauten

vom Fp. 202-203° aus. Sie ist leicht löslich in Methanol, heissem Alkohol, mässig löslich in Essigester und Äther.

Die Analyse ergab:

3.544 mg Substanz:	1.632 mg H ₂ O	9.158 mg CO ₂
3.311 mg Substanz:	0.273 ccm N ₂	(19°/ 713 mm)
3.967 mg Substanz:	3.078 mg AgJ	

C₁₈H₁₆N₂O₃ (308)

Ber.:	C	70.13	H	5.19	N	9.09
Gef.:	C	70.51	H	5.15	N	9.04
Ber.:	-OCH ₃	10.07				
Gef.:	-OCH ₃	10.25				

Die Methoxyverbindung wird ebenso wie die Neutralverbindung durch Laugen gespalten:

200 mg der Methoxyverbindung wurden in 10 ccm 5proz. methanolischer Kalilauge gelöst und 12 Stunden stehen gelassen. Es bildete sich ein Niederschlag von Kaliumoxalat, der durch Umkristallisieren zuerst aus halbkonzentrierter Salzsäure und dann anschliessend aus Wasser in Oxalsäure übergeführt wurde. Die Identifizierung der Oxalsäure erfolgte durch Mischschmelzpunkt.

Die Lösung wurde mit Schwefelsäure ganz schwach angesäuert (pH = 6) und der Methylalkohol mit dem grössten Teil des Wassers im Vakuum abgezogen. Aus dem Rückstand liess sich durch Extraktion mit Äther ein gelbes Öl gewinnen, das sich sofort dunkelrot färbte und verharzte. Es war weder in Säuren noch in Basen löslich. Mit Dinitrophenylhydrazin reagierte es nicht. Der Rückstand wurde mit Natronlauge alkalisch gemacht und angeäthert. Aus der ätherischen Schicht wurde eine äquivalente Menge Anilin isoliert.

b) Überführung der Methoxyverbindung C₁₈H₁₆N₂O₃
in die Diacetylverbindung C₂₁H₂₀N₂O₆

500 mg der Methoxyverbindung wurden in 2-3 ccm konz. Schwefelsäure gelöst, über Nacht stehen gelassen und dann auf Eis gegossen. Dabei schieden sich 350 mg einer Substanz ab vom Fp. 220-230°. Beim Umkristallisieren dieser Substanz aus Eisessig wurden lanzettenförmige Kristalle vom Fp. 100-102° erhalten.

Die Analyse ergab:

4.166 mg Substanz:	1.958 mg H ₂ O	9.643 mg CO ₂
3.518 mg Substanz:	0.219 ccm N ₂	(24°/728 mm)

C₂₁H₂₀N₂O₆ (396)

Ber.:	C	63.64	H	5.05	N	7.07
Gef.:	C	63.17	H	5.26	N	6.85

Acetylbestimmung (13):

27.0 mg Substanz verbrauchen 4.23 ccm 0.3n NaOH

Für zwei Acetylgruppen ber.:	21.70 % Acetyl
gef.:	22.46 % Acetyl

c) Spaltung der Methoxyverbindung C₁₈H₁₆N₂O₃ mit Eisessig/4n Schwefelsäure

Zu einer Lösung von 1 g der Methoxyverbindung in 10 ccm Eisessig wurden 10 ccm 4n Schwefelsäure hinzugefügt. Die Lösung wurde 10 Minuten am absteigenden Kühler gekocht, wobei 7 ccm des Lösungsmittels überdestillierten. Aus der im Rückstand verbliebenen Lösung fiel beim Abkühlen eine kristalline Substanz (Substanz 1) aus. Die Kristalle wurden abfiltriert, das Filtrat mit Natriumacetat abgestumpft und mit Wasser verdünnt. Aus der klaren Lösung schieden sich im Laufe von 24 Stunden lanzettenförmige Kristalle (Substanz 2) ab. Das Filtrat wurde mit einer schwefelsauren Lösung von Dinitrophenylhydrazin versetzt, wobei sich sofort ein dicker gelbroter Niederschlag (Substanz 3) bildete. Bei der Durchführung der Spaltung wurde ein langsamer Stickstoffstrom durch die Lösung geleitet um das entstehende Kohlendioxyd in eine Falle mit Bariumhydroxyd überzuführen. Es wurden 21 mg Bariumcarbonat erhalten.

Die Substanz 1 wurde getrocknet und mit 50 ccm Benzol in der Hitze extrahiert. Aus dem Extrakt schieden sich Kristalle vom Fp. 249-251° ab, die durch Mischschmelzpunkt als Oxalsäuredianilid identifiziert wurden. Die Ausbeute betrug 41 mg (5,3 % d. Th.).

Die im Rückstand verbliebenen Kristalle (687 mg) wurden zur Analyse mehrmals aus Eisessig umkristallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 244-245°. Die Verbindung ist gut löslich in Eisessig und Alkohol, wenig löslich in Essigester und Benzol. Mit Dinitrophenylhydrazin reagiert sie nicht.

Die Analyse ergab:

3.960 mg Substanz:	1.799 mg H ₂ O	9.311 mg CO ₂
3.676 mg Substanz:	0.272 ccm N ₂	(23°/717 mm)

$C_{19}H_{18}N_2O_5$ (354)

Ber.:	C	64.41	H	5.08	N	7.91
Gef.:	C	64.16	H	5.08	N	8.05

Acetylbestimmung:

27.4 mg Substanz verbrauchen 2.40 ccm 0.3n NaOH

Für ein Acetyl ber.:	12.15 % Acetyl
gef.:	12.56 % Acetyl

Die Substanz 2 schmolz bei 90-100°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Eisessig verringerte sich das Schmelzpunktsintervall auf 100-102°.

Die Analyse ergab:

3.362 mg Substanz:	1.485 mg H_2O	7.808 mg CO_2
3.297 mg Substanz:	0.221 ccm N_2	(26°/717 mm)

$C_{21}H_{20}N_2O_6$ (396)

Ber.:	C	63.64	H	5.05	N	7.07
Gef.:	C	63.38	H	4.94	N	7.21

Aus Analyse und Mischschmelzpunkt ergab sich, dass die Verbindung mit der Diacetylverbindung identisch ist.

Das Dinitrophenylhydrazon 3 war in organischen Lösungsmitteln zu wenig löslich um ein erfolgreiches Umkristallisieren zu ermöglichen. Es wurde daher bei einem neuen Versuch aus zwei filtrierten Lösungen gefällt und dann, um Verunreinigungen zu entfernen, mehrmals mit Alkohol ausgekocht. Aus Analyse und Mischschmelzpunkt ging hervor, dass es sich bei dem Dinitrophenylhydrazon um das Osazon des Methylglyoxals handelte. Das Osazon schmilzt bei 305-306°. Die Ausbeute betrug 81 mg (5.8% d.Th.).

Die Analyse ergab:

4.273 mg Substanz:	1.181 mg H_2O	6.520 mg CO_2
3.508 mg Substanz:	0.809 mg N_2	(24°/717 mm)

$C_{15}H_{12}N_2O_8$ (432)

Ber.:	C	41.66	H	2.78	N	25.92
Gef.:	C	41.64	H	3.09	N	25.00

Bei einem neuen kleineren Ansatz der Spaltung wurden aus 500 mg Methoxyverbindung jeweils 9% Oxalsäuredianilid und Methylglyoxal erhalten.

Da die Analyse des Osazons des Methylglyoxals nicht sehr genau stimmte, war es notwendig, das Methylglyoxal noch auf andere Weise zu identifizieren. Hierzu wurde bei einem neuen Ansatz das Reaktionsgemisch 30 Minuten erhitzt, wobei Dunkelfärbung und Abscheidung eines harzigen Produktes eintrat. Das bei der Reaktion entstandene Methylglyoxal ist zum Teil mit Wasserdämpfen in der Vorlage überdestilliert. Diese wässrige Lösung wurde 2 Tage lang mit verdünnter Kalilauge stehen gelassen. Hierbei bildete sich aus dem Methylglyoxal Milchsäure (Lit. 14). Die Milchsäure wurde durch eine Farbreaktion mit Quajacol nachgewiesen (Lit. 15).

d) Umsetzung des Bromproduktes mit Anilin zu $C_{23}H_{19}N_3O_2$

1 g der Bromverbindung wurde mit 3 ccm Anilin verrieben, wobei sich diese unter Wärmeentwicklung auflöste. Die Lösung wurde noch 10 Minuten im Wasserbad erhitzt, dann auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Äther versetzt. Hierbei schied sich eine zähe, ölige Substanz ab. Diese wurde, um das entstandene Anilin-Hydrochlorid zu entfernen, mit Wasser behandelt. Beim anschliessenden Umkristallisieren aus Alkohol schied sich die Verbindung $C_{23}H_{19}N_3O_2$ in rechteckigen durchsichtigen Platten vom Fp. 206° ab. Die Ausbeute betrug 826 mg (80% d.Th.).

Die Analyse ergab:

3.860 mg Substanz: 1.795 mg H_2O 10.578 mg CO_2

3.582 mg Substanz: 0.377 ccm N_2 ($26^\circ/718$ mm)

$C_{23}H_{19}N_3O_2$ (369)

Ber.: C 74.87 H 5.15 N 11.38

Gef.: C 74.87 H 5.20 N 11.35

Kristallisiert man die Verbindung aus Alkohol, dem einige Tropfen konz. Salzsäure zugesetzt sind, um, so erhält man ein Salz vom Fp. $116-118^\circ$. Das Salz ist sehr zersetzlich; schon beim Umkristallisieren aus wässrigem Alkohol wird die freie Base zurückgebildet.

e) Umsetzung des Bromproduktes mit Piperidin zu $C_{22}H_{23}N_3O_2$

Die Umsetzung erfolgte analog der Darstellung des Anilinderivates. Aus 1 g Bromprodukt und 3 ccm Piperidin wurden 763 mg des Piperidinderivates vom

Fp. 85° erhalten (78% d.Th.). Zur Reinigung wurde das Produkt in 2n Schwefelsäure gelöst, mit 2n Natronlauge wieder ausgefällt und anschliessend aus Benzol umkristallisiert. Die Verbindung ist sehr gut löslich in Äther und in Petroläther.

Die Analyse ergab:

4.414 mg Substanz: 2.546 mg H₂O 11.757 mg CO₂

4.337 mg Substanz: 0.468 mg N₂ (28°/723 mm)

C₂₂H₂₃N₃O₂ (361)

Ber.: C 73.13 H 6.37 N 11.63

Gef.: C 72.70 H 6.45 N 11.64

Die Verbindung ist gegenüber Säuren sehr stabil. Sie schied sich nach halbstündigem Kochen mit 30proz. Schwefelsäure unverändert wieder ab. Durch Laugen wird sie rasch zersetzt.

f) Darstellung der Hydroxyverbindung C₁₇H₁₄N₂O₃

1 g des Bromproduktes wurde mit 100 ccm Wasser, in dem Silberoxyd aufgeschlämmt war, etwa 10 Minuten gekocht. Das abgeschiedene Silberbromid und nicht umgesetztes Silberoxyd wurden abfiltriert. Aus der klaren Lösung schieden sich beim Abkühlen rautenförmige Kristalle vom Schmelzpunkt 262° ab. Die Hydroxyverbindung kann auch durch blosses Umkristallisieren der Bromverbindung aus sehr viel Wasser (für 1 g 1000 ccm Wasser) gewonnen werden. Die Verbindung ist gut löslich in Alkohol, mässig löslich in Wasser.

Die Analyse ergab:

3.929 mg Substanz: 1.673 mg H₂O 9.943 mg CO₂

3.620 mg Substanz: 0.312 ccm N₂ (25°/724 mm)

C₁₇H₁₄N₂O₃ (294)

Ber.: C 69.39 H 4.76 N 9.52

Gef.: C 69.06 H 4.76 N 9.41

Die Verbindung gibt mit wässriger Eisen(III)-chloridlösung keine Farbreaktion.

Eine methanolische Lösung der Verbindung wurde drei Tage lang mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan stehen gelassen. Das Ausgangsmaterial wurde unverändert wieder zurückgewonnen.

g) Darstellung der Aminoverbindung $C_{17}H_{15}N_3O_2$

In eine Lösung von 1 g der Bromverbindung in 50 ccm Chloroform wurde ein trockener Ammoniakstrom eingeleitet. Es fiel sofort ein dicker Niederschlag von Ammoniumbromid aus. Nach dem Abfiltrieren des Niederschlages wurde die Lösung im Vakuum bis auf 5 ccm eingengt und dann mit Äther versetzt. Dabei schied sich eine Substanz vom Fp. 150° ab. Sie ist in Alkohol leicht, in Benzol und Essigester mässig löslich. Zur Identifizierung wurde sie durch Diazotierung in die Hydroxyverbindung übergeführt.

Diazotierung der Aminoverbindung:

500 mg der Aminoverbindung wurden in 2 ccm 2n Salzsäure gelöst und mit einer wässrigen Lösung von Natriumnitrit versetzt. Es fiel sofort ein Niederschlag aus, der mit Alkohol umkristallisiert, beim Mischschmelzpunkt mit der Hydroxyverbindung keine Depression ergab.

h) Mannich-Kondensation mit dem Bromprodukt.

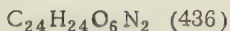
1.) Darstellung des quaternären Ammoniumsalzes.

5 g des Bromproduktes wurden in 150 ccm Chloroform gelöst und mit Trimethylamin im Überschuss versetzt. Es trat heftige Reaktion ein, wobei sich ein farbloses Öl abschied. Das Öl liess sich durch Anreiben leicht zur Kristallisation bringen. Beim Umkristallisieren aus wenig Wasser schied sich die Verbindung in langen Nadeln ab. Die Ausbeute betrug 5,22 g (91% d. Th.).

2.) Umsetzung des quaternären Ammoniumsalzes mit Natriummalonester.

Zu einer Lösung von 0.23 g (0.01 Mol) Natrium in 20 ccm abs. Alkohol wurden 1.76 g (0.011 Mol) Malonester und 5 g (0.012 Mol) quaternäres Salz hinzugefügt. Das Gemisch wurde acht Stunden auf dem Wasserbad erhitzt und anschliessend vom Unlöslichen abfiltriert. Nach Abdestillieren des Alkohols im Vakuum blieb ein gelbbraunes Öl zurück, das nach mehrmaligem Digerieren mit Äther pulverig wurde. Die Ausbeute betrug 4.4 g (84% d. Th.). Der Smp. lag bei 130° . Bereits nach einmaligem Umkristallisieren aus Äther war die Substanz analysenrein.

3.695 mg Substanz:	1.744 mg H_2O	8.959 mg CO_2
4.630 mg Substanz:	0.277 ccm N_2	($25^\circ/719$ mm)



Ber.:	C	66.05	H	5.50	N	6.42
Gef.:	C	66.16	H	5.28	N	6.48

8.) Oxydation mit Selendioxyd .

Zu der siedenden Lösung von 1 g der Neutralverbindung in 30 ccm Eisessig wurden 600 mg Selendioxyd hinzugefügt. Die Lösung färbte sich unter Abscheidung von Selen schlagartig dunkelrot. Um die Reaktion zu Ende zu bringen, wurde noch eine Stunde auf dem Ölbad (140°) erhitzt. Die noch heisse Lösung wurde vom ausgeschiedenen Selen abfiltriert und das Filtrat mit der fünffachen Menge Wasser versetzt. Die hierbei ausgeschiedene Substanz wurde nach einstündigem Stehen abfiltriert und zur Reinigung mehrmals aus Eisessig umkristallisiert. Der Fp. lag bei 325°. Die Ausbeute betrug 410 mg (Substanz 1). Das Filtrat von Substanz 1 wurde zur Entfernung des noch gelösten Selen mit Äther extrahiert und anschliessend im Vakuum weitgehend eingengt. Hierbei fielen noch 268 mg einer Substanz vom Fp. 110-120° (Substanz 2) an.

Die Substanz 1 ist in nahezu allen Lösungsmitteln unlöslich. Sie löst sich nur in Eisessig und konz. Schwefelsäure. Zur Analyse wurde die Verbindung unter Verwendung von Aktivkohle und Filtermasse 10mal aus Eisessig umkristallisiert. Dieses häufige Umkristallisieren war notwendig um die letzten Reste von noch anhaftendem Selen, die sich durch einen roten Farbstich bemerkbar machten, zu entfernen. Zur Kontrolle wurde die Substanz auch ohne Aktivkohle zur Analyse gereinigt.

Die Analyse ergab:

3.571 mg Substanz:	1.325 mg H ₂ O	9.087 mg CO ₂
4.785 mg Substanz:	1.723 mg H ₂ O	12.137 mg CO ₂
3.792 mg Substanz:	0.337 ccm N ₂	(23°/716 mm)
3.131 mg Substanz:	0.269 ccm N ₂	(24°/724 mm)



Ber.:	C	69.24	H	4.23	N	9.78
Gef.:	C	69.22	H	4.03	N	9.41
Gef.:	C	69.38	H	4.24	N	9.65

Im Kofler-Schmelzpunktsapparat liegt die Substanz zunächst mikrokristallin vor. Bei 280° beginnt sie unter Ausbildung von grossen rechteckigen Kristallen zu sublimieren.

In konz. Schwefelsäure löste sich die Verbindung mit dunkelroter Farbe. Beim Versetzen der Lösung mit Wasser schied sie sich unverändert wieder ab.

Die Chromsäureoxydation nach BARTHEL-La FORGE ergab keine C-ständige Methylgruppe.

Eine essigsäure Lösung der Verbindung wurde etwa fünf Minuten mit Phenylhydrazin gekocht. Die Lösung färbte sich rot. Beim Versetzen mit Wasser schied sich ein gelbes Produkt vom Schmelzpunkt 240° ab.

Überführung der Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ in die Säure $C_{33}H_{30}N_4O_9$:

Die Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$ löst sich beim Erwärmen in 2n Natronlauge. Säuert man die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung mit 2n Salzsäure schwach an, so erhält man einen gelben Niederschlag einer Säure vom Schmelzpunkt 135° (unter Decarboxylierung). Die Säure ist sehr gut löslich in Alkohol und Essigester, mässig löslich in Äther. Zur Analyse wurde aus Essigester Äther umkristallisiert.

Die Analyse ergab:

3.332 mg Substanz: 1.464 mg H_2O 7.760 mg CO_2

4.268 mg Substanz: 0.330 ccm N_2 ($26^{\circ}/724$ mm)

$C_{33}H_{30}N_4O_9$ (626)

Ber.: C 63.46 H 4.81 N 8.97

Gef.: C 63.56 H 4.92 N 8.41

Titration mit 0.1n Natronlauge gegen Phenolphthalein:

29 mg Substanz verbrauchen 0.86 ccm 0.1n NaOH

Äquivalentgewicht für zweibasige Säure ber.: 312

Gef.: 340

Beim Erhitzen der Säure auf 135° decarboxyliert sie. Das Decarboxylierungsprodukt konnte bis jetzt noch nicht zur Analyse gereinigt werden.

Überführung der Säure $C_{33}H_{30}N_4O_9$ in die Verbindung $C_{33}H_{24}N_4O_6$:

Eine ätherische Lösung der Säure wurde mit Diazomethan versetzt, wobei sich sofort ein Niederschlag vom Schmelzpunkt 325° bildete.

Die Analyse ergab:

3.989 mg Substanz: 1.486 mg H_2O 10.121 mg CO_2

3.694 mg Substanz: 1.388 mg H_2O 9.407 mg CO_2

3.12 mg Substanz: 0.276 ccm N₂ (20°/726 mm)

3.178 mg Substanz: 0.272 ccm N₂ (20°/726 mm)

C₃₃H₂₄N₄O₆ (572)

Ber.: C 69.24 H 4.23 N 9.78

Gef.: C 69.24 H 4.17 N 9.52

Gef.: C 69.49 H 4.20 N 9.52

Aus Analyse und Mischschmelzpunkt ergab sich, dass die Substanz mit der ursprünglichen Verbindung C₃₃H₂₄N₄O₆ identisch ist.

Die Substanz 2 ist in Alkohol, Essigester, Benzol, Eisessig und heissem Wasser löslich, in Petroläther unlöslich. Zur Analyse wurde die Verbindung nur aus Eisessig umkristallisiert. Hierbei bleibt der Schmelzpunkt von 110°-120° und die Kristallform (lange Nadeln) erhalten.

Die Analyse ergab:

3.498 mg Substanz: 1.582 mg H₂O 8.133 mg CO₂

4.281 mg Substanz: 0.265 ccm N₂ 24°/724 mm)

C₂₀H₁₈N₂O₆ (382)

Ber.: C 62.83 H 4.71 N 7.33

Gef.: C 63.45 H 5.06 N 6.78

Acetylbestimmung:

30.0 mg Substanz verbrauchen 4.6 ccm 0.3n NaOH

Für zwei Acetylgruppen ber.: 22.51 % Acetyl

Gef.: 22.00 % Acetyl

Kristallisiert man die Verbindung (Fp. 110-120°) aus anderen Lösungsmitteln z.B. Benzol Petroläther oder Wasser um, so erhält man rautenförmige Kristalle vom Fp. 175°.

Die Analyse ergab:

3.455 mg Substanz: 1.439 mg H₂O 8.536 mg CO₂

3.602 mg Substanz: 0.296 mg N₂ (24°/716 mm)

C₁₈H₁₄N₂O₄ (322)

Ber.: C 67.14 H 4.38 N 8.70

Gef.: C 67.42 H 4.66 N 8.89

Acetylbestimmung:

21.3 mg Substanz verbrauchen 1.90 ccm 0.3n NaOH

Für eine Acetylgruppe ber.: 13.35% Acetyl

Gef.: 12.77% Acetyl

Methylgruppenbestimmung:

29.7 mg Substanz verbrauchen 2.39 ccm 0.3n NaOH

Gef.: 11.52% Acetyl

Aus dem Rückstand der Oxydation wurde Oxalsäuredianilid isoliert.

9) Langsame Oxydation mit Kaliumpermanganat zu $C_{33}H_{24}N_4O_6$

Eine Lösung von 600 mg der Verbindung in 30 ccm Eisessig wurde in einem Dreihalskolben auf 60° (Wasserbadtemperatur) erhitzt und, unter Rühren, eine Lösung von 300 mg Kaliumpermanganat in 300 ccm stabilisiertem Eisessig tropfenweise hinzugegeben. Beim Zutropfen des Oxydationsmittels, das ungefähr 8 Stunden erforderte, wurde ein Überschuss streng vermieden. Das bei der Reaktion gebildete Kohlendioxyd wurde mit einem Stickstoffstrom in eine Waschflasche mit Bariumhydroxyd übergeführt. Es entstanden 60 mg Bariumcarbonat (14% d.Th.).

Nach dem Abziehen des Eisessigs im Vakuum schieden sich 250 mg einer kristallinen Substanz aus. Diese wurde zunächst mit 50 ccm Benzol in der Hitze extrahiert. Im Extrakt kristallisierte eine Verbindung vom Fp. 250-251° aus, die sich als Oxalsäuredianilid erwies. Der Mischschmelzpunkt ergab keine Depression. Die Ausbeute betrug 40 mg (8% d.Th.).

Die im Rückstand der Extraktion verbliebene Substanz liess sich aus Eisessig umkristallisieren, wobei Kristalle vom Fp. 325° erhalten wurden.

Die Analyse ergab:

4.311 mg Substanz: 1.607 mg H_2O 10.932 mg CO_2

3.521 mg Substanz: 0.296 ccm N_2 (20°/713 mm)

$C_{33}H_{24}N_4O_6$ (572)

Ber.: C 69.24 H 4.23 N 9.78

Gef.: C 69.20 H 4.17 N 9.20

Aus Analyse und Mischschmelzpunkt ging hervor, dass die Verbindung mit dem Produkt aus der Selenioxydoxydation identisch ist.

III. Reaktionen am Ester $C_{20}H_{20}N_2O_5$

1) Darstellung des Esters $C_{20}H_{20}N_2O_5$

Der Äthylester der Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$ liess sich wie die freie Säure durch Oxydation des Esters Ib mit Kaliumpermanganat darstellen. Es musste dazu die Lösung durch zeitweises Hinzufügen von verdünnter Salzsäure während der Oxydation neutral gehalten werden, um eine Verseifung des Esters zu verhindern. Die Aufarbeitung der Reaktion erfolgte wie bei der Darstellung der freien Säure. Um die Substanz vom nicht oxydierten Ester Ib abzutrennen wurde sie in 2n Natronlauge in der Kälte gelöst und anschliessend sofort mit 2n Salzsäure wieder ausgefällt. Von geringen Beimengungen an freier Säure lässt sich der Ester durch Umkristallisieren aus Alkohol leicht befreien, da er in Alkohol wesentlich schwerer löslich ist. 10 g des Esters Ib ergaben bei der Oxydation 7.6 g (79 % der Theorie) Ester $C_{20}H_{20}N_2O_5$. Der Ester ist löslich in Alkohol und Essigester, wenig löslich in Äther. Er kristallisiert in dicken Bolzen vom Fp. 198-200°. Beim Schmelzen tritt im Gegensatz zur Säure nur geringfügige Zersetzung ein.

Die Analyse ergab:

4.394 mg Substanz: 2.124 mg H_2O 10.537 mg CO_2

4.284 mg Substanz: 0.289 ccm N_2 (22°/720 mm)

$C_{20}H_{20}N_2O_5$ (368)

Ber.: C 65.22 H 5.43 N 7.61

Gef.: C 65.44 H 5.41 N 7.62

Löst man den Ester in 2n Natronlauge auf und lässt die Lösung drei Stunden stehen, so erhält man beim Ansäuern die freie Säure $C_{18}H_{16}N_2O_5$.

2) Überführung des Esters $C_{20}H_{20}N_2O_5$ in die Verbindung $C_{20}H_{18}N_2O_4$

1 g des Esters $C_{20}H_{20}N_2O_5$ wurde in kalter konz. Schwefelsäure gelöst, wobei, im Gegensatz zur freien Säure, keine Decarboxylierung eintrat. Beim Aufgiessen der Lösung auf Eis schied sich die Verbindung vom Fp. 194° ab. Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisieren aus Alkohol.

Die Analyse ergab:

4.123 mg Substanz: 1.836 mg H_2O 10.350 mg CO_2

4.172 mg Substanz: 0.301 ccm N_2 (23°/721 mm)

$C_{20}H_{18}N_2O_4$ (350)

Ber.:	C	68.57	H	5.14	N	8.00
Gef.:	C	68.51	H	4.98	N	7.89

Die Verbindung ist in Laugen unter Veränderung löslich; beim Ansäuern erhält man ein gummiartiges Produkt.

Mit einer schwefelsauren Dinitrophenylhydrazinlösung reagierte die Verbindung nicht.

In Eisessig nahm die Verbindung kein Brom auf. Eine Lösung von 100 mg der Verbindung in 5 ccm Eisessig wurde mit 80 mg Selendioxyd versetzt. Die Lösung wurde zum Sieden gebracht, wobei keine Selenabscheidung eintrat.

Methylgruppenbestimmung:

29.8 mg Substanz ergaben einen Verbrauch von
4.04 ccm 0.3n NaOH

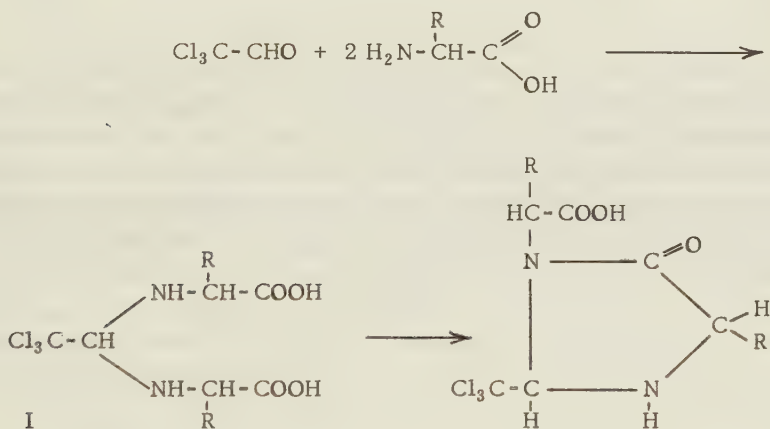
Für zwei Methylgruppen	ber.:	24.57 % Acetyl
	Gef.:	19.44 % Acetyl.

Teil II

THEORETISCHER TEIL

Beobachtungen an der Brenztraubensäure haben uns veranlasst zu prüfen, ob hydratbildende Carbonylverbindungen zur Ausbildung von Peptidbindungen herangezogen werden können. Als Modell benützten wir Chloral.

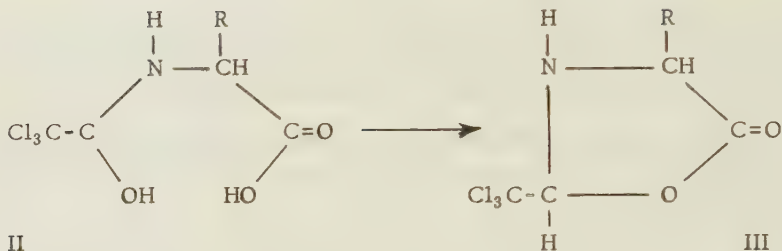
Für die Umsetzung von Chloral mit Aminosäuren kommen zwei Möglichkeiten in Betracht. Chloral konnte mit zwei Aminosäuren zu einer Verbindung der Struktur I reagieren.



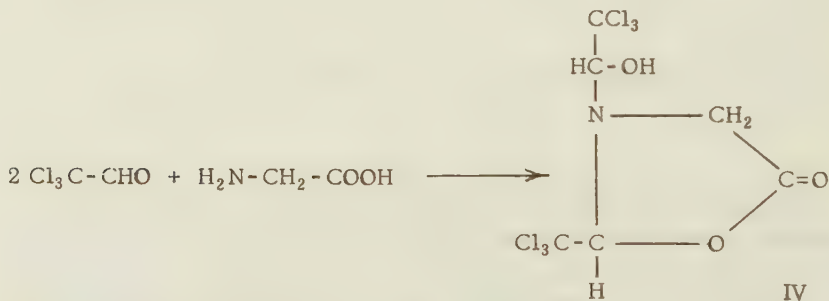
In dieser angenommenen Verbindung befinden sich die Carboxylgruppen jeweils in γ -Stellung zu den Aminogruppen, so dass unter Schliessung eines Fünfringes eine Säureamidbindung ausgebildet werden konnte. Durch Reaktion der noch vorhandenen Carboxylgruppe mit der Aminogruppe konnten hier allerdings Derivate von Diketopiperazinen entstehen.

Mehr erwarteten wir daher von der zweiten Reaktionsmöglichkeit, bei der nur ein Mol Aminosäure mit einem Mol Chloral reagiert (s. Schema S. 32).

Voraussetzung für eine Anwendbarkeit dieser Reaktion zu Peptidsynthesen ist, dass sich zwischen der Carboxyl- und der dazu in γ -Stellung befindlichen Hydroxylgruppe ein Lactonring schliesst, wobei das Lacton einer hydratisierten Schiff'schen Base, ein Oxazolidonderivat, entstehen würde. In diesem Oxazolidonderivat wäre die für eine Peptidsynthese notwendige Blockierung der Amino- und Aktivierung der Carboxylgruppe erreicht.



Experimentell fanden wir, dass die zweite Reaktion abläuft. Und zwar reagieren zwei Mol Chloral mit einem Mol Glycin unter Abspaltung von einem Mol Wasser zu einer Verbindung $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_3\text{NCl}_6$, die sich wegen ihrer Leichtlöslichkeit in Äther und Schwerlöslichkeit in Wasser leicht vom Ausgangsmaterial abtrennen lässt. Auf Grund ihrer Entstehungsweise und Zusammensetzung muss der Verbindung die Struktur eines 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5 (IV) zukommen.

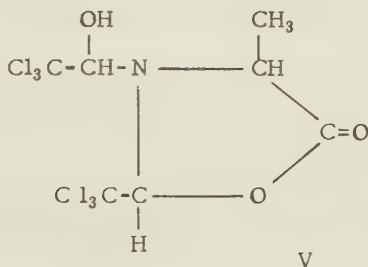


Die Verbindung lässt sich mit Säuren quantitativ in die Komponenten aufspalten. Das UR-Spektrum zeigt die für die Lactongruppierung charakteristische Bande bei $5,58 \mu$. Ferner findet sich im UR-Spektrum die in der Verbindung IV vorliegende Hydroxylgruppe. Diese besitzt noch die sauren Eigenschaften wie im Chloralhydrat und lässt sich mit Diazomethan veräthern, wobei eine Verbindung $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_3\text{NCl}_6$ erhalten wird.

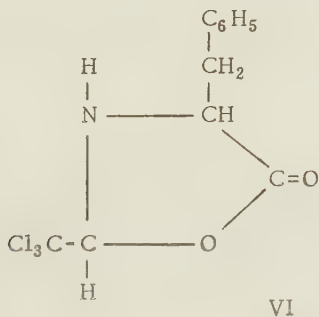
Auch wenn man die Reaktion mit weniger Chloral durchführt, entsteht die Verbindung IV.

Zum Unterschied vom wasserfreien Chloral reagierte Chloralhydrat mit Aminosäuren in wässriger Lösung bei Raumtemperatur auch nach längerem Stehen nicht.

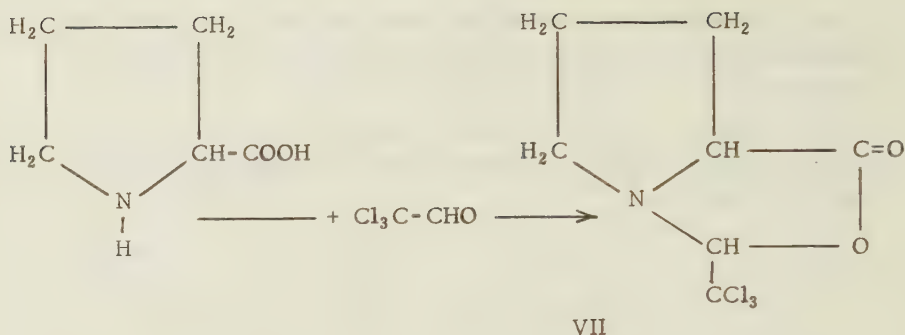
Gleichartig wie beim Glycin verlief die Reaktion beim Alanin. Es wurde eine Verbindung erhalten, deren Zusammensetzung und Eigenschaften der Strukturformel V entsprechen.



Geht man zum Phenylalanin über, so setzt sich nur noch ein Mol Chloral mit der Aminosäure zum Oxazolidonderivat VI um. Die Ursache dürfte in der gleichzeitigen Abschirmung der Aminogruppe durch den Phenyl- und den Chloralrest liegen. Diese sterische Hinderung kommt auch zum Ausdruck in der schwereren Verseifbarkeit der Acyl-phenyl-alaninester im Vergleich zu den entsprechenden Acyl-alaninestern.

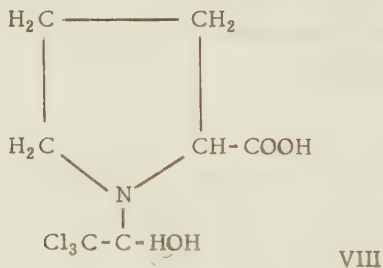


Auch L-Prolin reagiert mit Chloral zu einer Verbindung der Zusammensetzung $C_7H_8O_2NCl_3$. Diese ätherlösliche Verbindung enthält keine Carboxylgruppe mehr, so dass ihr die Struktur VII zukommen muss.



Allerdings wird bei dieser Reaktion das Oxazolidonderivat nur in 40proz. Ausbeute erhalten.

Daneben entsteht noch eine Verbindung der Zusammensetzung $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_3\text{NCl}_3$, die also ein Mol Wasser mehr enthält und die wahrscheinlich die offene Oxy-carbonsäure VIII ist. Sie reagiert im Gegensatz zum Oxazolidon VII mit Diazomethan und ist in Wasser löslich, in Äther dagegen schwerlöslich. Beim Umkristallisieren auch aus inerten Lösungsmitteln zerfällt die Verbindung in äquivalente Mengen von Prolin und Chloral.



Es ist uns bisher nicht gelungen, die Verbindung VIII in das geschlossene Oxazolidon VII überzuführen. Bevor wir eine Erklärung für diesen Befund geben können, müssen noch weitere Versuche unternommen werden.

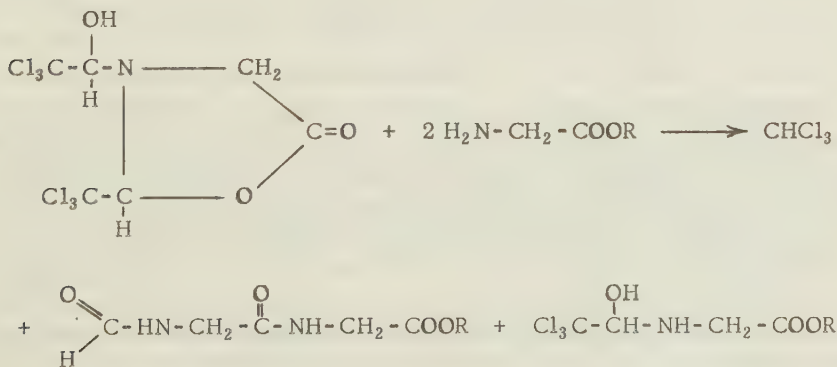
Mit Leucin reagierte Chloral zwar, aber es konnte kein beständiges Reaktionsprodukt isoliert werden. Beim Versuch, das Produkt umzukristallisieren, zerfällt es ebenso wie die Verbindung VIII in die Ausgangsstoffe. Wir nehmen an, dass der sperrige Leucinrest die Lactonbildung verhindert und die offene Form leicht wieder zerfällt.

Analog verlief die von SCHÄFER (Lit. 16) versuchte Umsetzung von Iso-leucin mit Chloral.

Ausser durch sterische Faktoren wird die Reaktion noch durch die sauren Eigenschaften von Aminosäuren eingeschränkt. So gelingt es selbst unter verschärften Bedingungen nicht, Glutaminsäure mit Chloral zur Reaktion zu bringen. Da die Glutaminsäure etwas in Chloral löslich ist und die gelöste Aminosäure ebenfalls unverändert zurückgewonnen wurde, kann die Ursache nur an der sauren Natur der Glutaminsäure und nicht an den Löslichkeitsverhältnissen liegen.

Da nun an einer Reihe von Aminosäuren die Oxazolidonbildung mit Chloral durchgeführt war, sollte versucht werden, ob sich diese Verbindungen mit Aminosäureester aminolytisch unter Bildung von Peptidestern öffnen lassen.

Experimentell wurde zunächst die Reaktionsfähigkeit der Verbindung IV gegenüber Aminen verschiedener Basizität untersucht. Sie setzte sich mit zwei Mol Cyclohexylamin in ätherischer Lösung bei Raumtemperatur glatt zum Formylglycyl-cyclohexylamid um. Dagegen wurde unter den gleichen Bedingungen mit Anilin keine Reaktion beobachtet, d.h. also, dass der Lactonring unter den gegebenen Bedingungen durch genügend basische Amine geöffnet wird. Demzufolge verlief die Reaktion von 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidon-5 mit Glycinäthylester, der in der Basizität den aliphatischen Aminen etwa gleichkommt, wie beim Cyclohexylamin. Bei der Umsetzung von zwei Mol Glycinäthylester mit einem Mol 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidon-5 in Äther bei Raumtemperatur, schied sich schon nach wenigen Minuten in 90proz. Ausbeute eine Verbindung ab, die die Zusammensetzung und Eigenschaften des Formyl-glycyl-glycinäthylesters aufwies.



Das Vorliegen dieser Verbindung wurde durch milde Verseifung mit alkoholischer Salzsäure zum Glycyl-glycinäthylester-hydrochlorid und anschliessende Überführung in den freien Dipeptidester gesichert.

Für eine eventuelle Anwendung der Reaktion zur Synthese von Peptiden, war noch zu prüfen, ob das Reaktionsprodukt frei von Glycin bzw. Glycinäthylester ist. Dazu wurde der Glycyl-glycinäthylester zum freien Dipeptid verseift und dieses chromatographiert, wobei sich das freie Peptid als chromatographisch rein erwies ⁺⁾ .



Bei dieser Umsetzung der Verbindung IV mit Glycinäthylester wurde als Nebenprodukt Chloroform gebildet. Ausserdem wurde ein Öl erhalten, das nach Spaltung mit Säuren Chloral lieferte und in dem somit das Hydrat der Schiff'sche Base aus Aminosäureester und Chloral vorliegen dürfte. Das zweite Mol Aminosäureester ist bei der Reaktion also zur Bindung von Chloral erforderlich. Setzt man Verbindung IV mit nur einem Mol Aminosäureester um, so tritt keine Abscheidung von Formyl-peptidester ein. Es soll noch untersucht werden, ob das zweite Mol Aminosäureester durch eine andere, weniger wertvolle Base ersetzt oder ob der Verlust von einem Mol Aminosäureester auf anderem Weg vermieden werden kann.

⁺⁾ Herrn Dr. E. Wünsch vom Max Planck-Institut für Eiweiss- und Lederforschung danke ich für die freundlichen Ratschläge und die Überlassung der Vergleichssubstanzen.

2-Trichlormethyl-3-chloralyl-4-methyl-oxazolidon-5 lieferte bei der Umsetzung mit zwei Mol Glycinäthylester in analoger Weise Formyl-D,L-alanyl-glycinäthylester. Die Abspaltung der Formylgruppe erfolgte wiederum mit 1n alkoholischer Salzsäure. Hier gelang es nicht, das entstehende D,L-Alanyl-glycinäthylester-hydrochlorid oder den freien Ester zur Kristallisation zu bringen. Es war daher notwendig den D,L-Alanyl-glycinäthylester, der als Öl anfiel, zum freien Dipeptid zu verseifen und dieses durch Analyse und Chromatographie zu identifizieren. Das D,L-Alanylglycin erwies sich ebenfalls als chromatographisch rein, das heisst, frei von Alanin und Glycin. Es treten also weder Kopf- noch Endamino-säure bei der Reaktion als Verunreinigung auf. (S. 36)

Das aus Chloral und L-Prolin erhaltene Oxazolidonderivat VII wurde mit einem Mol Aminosäureester umgesetzt, wobei Formyl-L-prolyl-glycinäthylester entstand. Da sowohl der Formyl-L-prolyl-glycinäthylester wie auch das L-Prolyl-glycinäthylester-hydrochlorid und der freie Ester ölig waren, wurde, ohne diese Verbindungen im einzelnen zu identifizieren, das freie Dipeptid hergestellt. Das in sehr guter Ausbeute erhaltene L-Prolyl-glycin war chromatographisch und optisch rein. Das beweist, dass jedenfalls bei dieser Umsetzung keine Racemisierung eingetreten war.

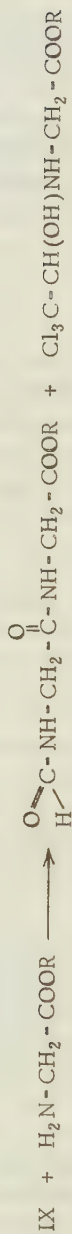
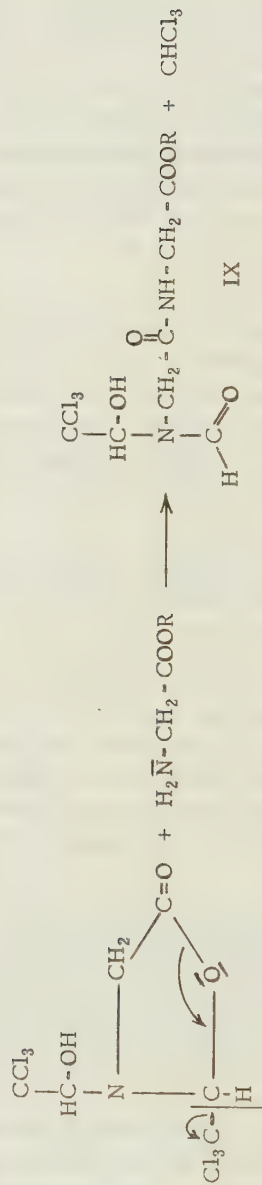
Auch die Darstellung eines Tripeptides gelang mit dieser Methode. Bei der Umsetzung der Verbindung IV mit Glycyl-glycinäthylester in Tetrahydrofuran schied sich in 90proz. Ausbeute Formyl-triglycyl-äthylester ab.

Für den Ablauf der Umsetzungen der aus Aminosäuren und Chloral erhaltenen Oxazolidonderivate mit Aminosäureester kommen verschiedene Möglichkeiten in Betracht: die Reaktion kann auf dem in Schema A skizzierten Weg ablaufen. Die Base greift am Carbonyl der Lactongruppe ein, wobei unter Abspaltung von Chloroform die Formylverbindung IX entsteht. Die Abspaltung von Chloral aus der nicht mehr basischen Formylverbindung IX erfolgt durch weitere Reaktionen mit einem zweiten Mol Aminosäureester.

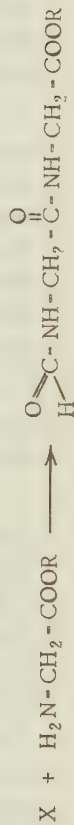
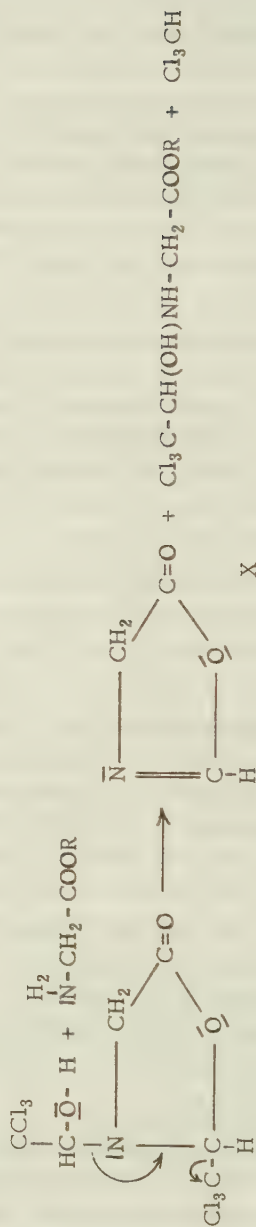
Es ist aber auch denkbar, dass die Base, gemäss Schema B, den sauren Wasserstoff des Chloralrestes ablöst, wobei unter Abspaltung von Chloral das Oxazolon X gebildet würde. Methyl- bzw. Phenyl-oxazolone (Lit. 18) reagieren schon unter milden Bedingungen mit Aminosäureester zu den entsprechend acylierten Peptidestern, also müsste in unserem Fall die Reaktion zum Formylpeptidester führen.

Den Reaktionsablauf nach Schema B halten wir jedoch für weniger wahrscheinlich, da das aus L-Prolin erhaltene Oxazolidonderivat VII, das nur einen Chloralrest enthält und das daher nur nach Schema A reagieren kann, sich unter ganz analogen Bedingungen wie die Oxazolidonderivate IV und V, mit Aminosäureester

Schema A



Schema B

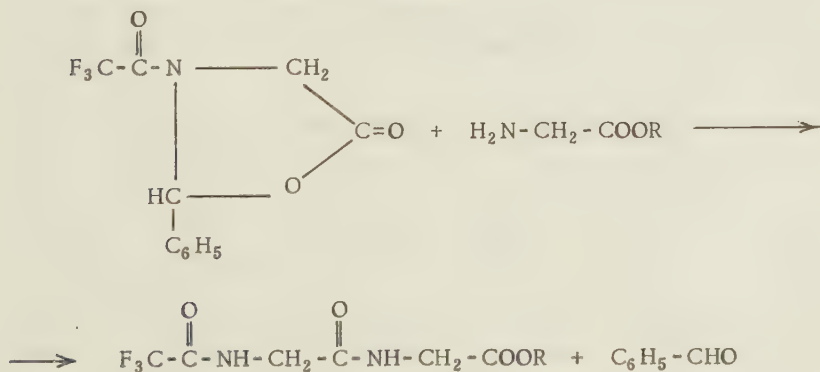


umsetzt. Eine sichere Aussage kann man jedoch erst dann machen, wenn die beschriebene Peptidsynthese an weiteren, optisch aktiven Aminosäuren durchgeführt ist. Läuft die Synthese über die Stufe eines Oxazolons, so muss weitgehende Racemisierung eintreten.

Sowohl nach Schema A wie nach Schema B setzt sich ein Lactonderivat mit Aminosäureester um. Es ist das eine Reaktion, die zur Synthese der Pantothensäure aus α -Oxy- β , β -dimethyl- γ -butyrolacton und β -Alaninester benützt wird.

Die grosse Reaktionsfähigkeit der 2-Trichlormethyl-oxazolidone ist aus folgendem Grund leicht verständlich: Das Elektronenpaar des Lactonsauerstoffs ist induktiv durch den Trichlormethylrest stark in Anspruch genommen, was eine Herabsetzung der Estermesomerie zur Folge hat. Die Lactongruppierung nimmt daher in diesen Oxazolidonderivaten weitgehend Carbonylcharakter an.

Aus der Literatur seien einige, wenn auch teilweise entferntere Parallelen angeführt. So ist die Estergruppe nach Einführung eines negativen Substituenten in den Alkoholrest wie z.B. in den Cyanmethylestern $R-COOCH_2-CN$ (Lit. 18) wesentlich reaktionsfähiger. Auch die Methoxymethylester $R-COOCH_2OCH_3$ (Lit. 18) und die acylierten α -Oxytetrahydropyrane (Lit. 19), beides O-Acyhalbacetale, werden zu Peptidsynthesen verwendet. In diesem Zusammenhang zu nennen sind auch die von WEYGAND durchgeführten Peptidsynthesen mit N-Trifluoracetyl-oxazolidonen, die aus Trifluoracetyl-glycin, Benzaldehyd, Trifluoressigsäureanhydrid und Natriumtrifluoracetat erhalten werden. Diese, unseren Oxazolidonderivaten nahestehenden Verbindungen, reagieren, wenn auch erst bei Erhitzen in Tetrahydrofuran, mit Aminosäureester zu Trifluoracetyl-peptidestern (Lit. 20).



Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche zeigen, dass der Aufbau von Peptiden nach der anfangs gegebenen Arbeitshypothese bei einfachen Aminosäuren möglich ist. Ziel weiterer Untersuchungen ist es, diese Synthese auf kompliziertere bzw. trifunktionelle Aminosäuren anzuwenden, wobei gerade bei letzteren Vorteile zu erwarten sind.

EXPERIMENTELLER TEIL

I. Reaktionen des Chlorals mit Aminosäuren

1.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5

7.5 g (0.1 Mol) Glycin wurden mit 29.5 g (0.2 Mol) wasserfreiem Chloral versetzt und in einem verschlossenen Kölbchen stehen gelassen. Die anfangs ungelöste Aminosäure setzte sich innerhalb von zwölf Stunden mit dem Chloral zu einem gallertigen Reaktionsprodukt um, das im Verlauf von weiteren fünf Tagen zu einer festen Masse erstarrte. Diese wurde pulverisiert und anschliessend mit etwa 300 ccm Wasser behandelt. Es blieb eine Substanz vom Smp. 115° zurück. Um die nicht umgesetzte Aminosäure zurückzugewinnen, wurde die wässrige Lösung zur Trockne eingedampft und aus dem Rückstand das Chloralhydrat mit Äther herausgelöst. Es verblieben 1.46 g Glycin im Rückstand. Die Ausbeute betrug 27.8 g; das entspricht 79% der Theorie, berechnet auf das eingesetzte Glycin und 95% der Theorie, berechnet auf das umgesetzte Glycin.

Das Reaktionsgemisch kann auch bereits nach zwölfstündigem Stehen aufgearbeitet werden, wobei allerdings die Ausbeute geringer ist.

Auch bei der Umsetzung von Chloral mit Glycin im Molverhältnis 1:1 wurde die gleiche Verbindung vom Smp. 115° erhalten.

Das Oxazolidonderivat ist löslich in Alkohol, Essigester, Äther und unlöslich in Wasser, Petroläther und verdünnter Salzsäure. Von verdünnter Natronlauge wird es gelöst, kann aber durch Ansäuern nicht zurückgewonnen werden. Aus Äther/Petroläther kristallisiert die Verbindung in Nadeln vom Smp. 116° aus. Zur Analyse wurde aus Alkohol/Wasser und anschliessend aus Äther/Petroläther umkristallisiert.

6.602 mg Substanz: 0.936 mg H₂O 4.998 mg CO₂

6.384 mg Substanz: 0.252 ccm N₂ (21°/717 mm)

225.6 mg Substanz: 38.2 ccm 0.1n AgNO₃

C₆H₅O₃NCl₆ (351.8)

Ber.:	C	20.48	H	1.43	N	3.98	Cl	60.46
Gef.:	C	20.66	H	1.59	N	4.32	Cl	60.04

Die Verbindung ist in ätherischer Lösung gegenüber Pyridin und Eisessig beständig, von alkoholischer Salzsäure wird sie in die Komponenten gespalten:

0.35 g (0.001 Mol) 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidon-5 wurde in wenig in alkoholischer Salzsäure gelöst und anschliessend im Exiccator zur Trockne eingeengt. Nach Extraktion mit Äther verblieben 0.098 g Glycinhydrochlorid (90% d.Th.) im Rückstand.

Einwirkung von Diazomethan auf 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidon-5

Das 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidon-5 reagierte in ätherischer Lösung heftig mit Diazomethan, wobei sofort lange Nadeln vom Smp. 165° auskristallisieren. Zur Analyse wurde die Verbindung aus Alkohol umkristallisiert.

3.649 mg Substanz: 9.746 mg H₂O 3.139 mg CO₂

4.476 mg Substanz: 0.182 ccm N₂ (21°/718 mm)

C₇H₇O₃NCl₆ (365.8)

Ber.: C 22.96 H 1.93 N 3.83

Gef.: C 23.48 H 2.28 N 4.46

Umsetzung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5
mit Cyclohexylamin zum Formyl-glycylcyclohexylamid

Zu einer Lösung von 0.702 g (0.002 Mol) der Oxazolidonverbindung in wenig abs. Äther wurden 0.396 g (0.004 Mol) Cyclohexylamin hinzugegeben. Nach einigen Minuten kristallisierten Nadeln vom Smp. 133-135° aus. Die Ausbeute betrug 0.309 g (84% d.Th.).

Die Verbindung ist löslich in Alkohol und Essigester, schwer löslich in Äther. Zur Analyse wurde aus Essigester umkristallisiert, wobei die Verbindung in dünnen Blättchen vom Smp. 136° anfiel.

3.335 mg Substanz: 2.597 mg H₂O 7.170 mg CO₂

4.024 mg Substanz: 0.588 ccm N₂ (21°/703 mm)

C₉H₁₆O₂N₂ (184.2)

Ber.: C 58.67 H 8.75 N 15.21

Gef.: C 58.67 H 8.71 N 15.69

2.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-4-methyl-oxazolidons-5

4.45 g (0.05 Mol) D,L-Alanin reagierten innerhalb mehrerer Tage mit 16.21 g (0.11 Mol) wasserfreiem Chloral zu einer ebenfalls gallertigen Masse. Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches kann auf die selbe Weise erfolgen wie beim Dichloralglycin. Es wurde das nicht umgesetzte Ausgangsmaterial mit Wasser herausgelöst, wobei das Reaktionsprodukt in ziemlich reiner Form zurückblieb.

Etwas vereinfacht wird die Aufarbeitung, wenn man das Reaktionsgemisch zuerst mit Äther extrahiert. Hierbei wird die nicht umgesetzte Aminosäure sofort zurückerhalten. Zur Gewinnung des Reaktionsproduktes muss die ätherische Lösung zur Trockne eingeeengt und das Chloral mit Wasser herausgelöst werden.

Die Ausbeute ist nach beiden Aufarbeitungsmethoden ungefähr die gleiche. Sie betrug 13.11 g wobei 1.21 g Alanin zurückgewonnen wurden. Dies entspricht 71% der Theorie, berechnet auf eingesetztes Alanin und 94% der Theorie, berechnet auf umgesetztes Alanin.

Das 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-4-methyl-oxazolidon-5 ist löslich in Alkohol, Essigester, Äther, unlöslich in Wasser und Petroläther. Zur Analyse wurde aus Alkohol/Wasser und Äther/Petroläther umkristallisiert, wobei sich die Verbindung in Nadeln vom Smp. 140-141° abschied.

4.430 mg Substanz:	0.86 mg H ₂ O	3.79 mg CO ₂
4.613 mg Substanz:	0.147 ccm N ₂	(26°/751 mm)

C₇H₇O₃NCl₆ (365.8)

Ber.:	C	22.98	H	1.93	N	3.83
Gef.:	C	23.35	H	2.17	N	3.59

3.) Darstellung des 2-Trichlormethyl-4-benzyl-oxazolidons-5

3.30 g (0.02 Mol) Phenylalanin wurden mit 5.89 g (0.04 Mol) wasserfreiem Chloral versetzt. Innerhalb von 24 Stunden erstarrte das Reaktionsgemisch zu einer harten Masse. Diese wurde pulverisiert und in kleinen Anteilen mit insgesamt 300-400 ccm Äther extrahiert. Im Rückstand verblieben 1.41 g Phenylalanin. Die ätherische Lösung wurde zur Trockne eingeeengt, mit Wasser versetzt und die zurückgebliebenen Kristalle abgetrennt. Die Ausbeute betrug 3.43 g; das entspricht 42% der Theorie, berechnet auf eingesetztes Phenylalanin und 98% der Theorie, berechnet auf umgesetztes Phenylalanin.

Die Verbindung ist löslich in Alkohol und Äther, unlöslich in Wasser und Petroläther. Aus Äther/Petroläther kristallisiert sie in Nadeln vom Smp. 118°.

3.573 mg Substanz: 1.108 mg H₂O 5.949 mg CO₂

9.901 mg Substanz: 0.464 ccm N₂ (25°/725 mm)

C₁₁H₁₀O₂NCl₃ (294.5)

Ber.: C 44.86 H 3.41 N 4.75

Gef.: C 45.44 H 3.47 N 5.12

4.) Umsetzung von Chloral mit L-Prolin

2.30 g (0.02 Mol) L-Prolin reagierten unter Erwärmung mit 3.23 g (0.022 Mol) wasserfreiem Chloral zu einer zähen Masse. Um die Reaktion zu beenden wurde das Gemisch noch zwei Tage stehen gelassen. Dann wurde mehrmals mit abs. Äther (insgesamt 150 ccm) extrahiert, der Äther im Vakuum abgezogen und der Rückstand mit Wasser versetzt. Es blieb ein kristallines Pulver zurück, das beim langsamen Erhitzen im Kofler-Schmelzpunktsapparat zu langen Nadeln sublimierte, die bei 110° schmolzen. Die Ausbeute betrug 1.95 g (40 % d.Th.).

Die Verbindung ist löslich in Alkohol und Äther schwerlöslich in Petroläther und Wasser. Aus Alkohol/Wasser scheidet sich das Oxazolidonderivat in Nadeln vom Smp. 110° aus.

4.351 mg Substanz: 1.31 mg H₂O 5.48 mg CO₂

5.205 mg Substanz: 0.159 ccm N₂ (22°/760 mm)

C₇H₈O₂NCl₃ (244.5)

Ber.: C 34.38 H 3.31 N 5.72

Gef.: C 34.37 H 3.37 N 5.76

Der bei der Extraktion mit Äther ungelöste Teil des Reaktionsproduktes besteht aus lanzettenförmigen Kristallen vom Smp. 90°. Die Ausbeute betrug 2.71 g (52 % d.Th.). Beim Versuch diese Verbindung aus Alkohol/Äther umzukristallisieren wurde Prolin erhalten.

Die Verbindung ist löslich in Alkohol und Wasser, schwerlöslich in Äther.

Zur Analyse wurde das Rohprodukt gegeben.

4.467 mg Substanz: 1.95 mg H₂O 5.33 mg CO₂

5.386 mg Substanz: 0.267 ccm N₂ (22°/760 mm)

C₇H₁₀O₃NCl₃ (262.5)

Ber.: C 32.03 H 3.84 N 5.33

Gef.: C 32.56 H 4.88 N 5.74

5.) Versuch zur Umsetzung von Chloral mit Glutaminsäure

2.94 g Glutaminsäure und 5.90 g wasserfreies Chloral wurden zusammengegeben und acht Tage stehen gelassen, ohne dass sich eine Veränderung zeigte. Selbst beim Erhitzen auf dem Wasserbad trat keine Reaktion ein. Das Chloral wurde von der nicht gelösten Glutaminsäure abfiltriert und das Filtrat mit 30 ccm Wasser versetzt. Hierbei schieden sich 0.3 g unveränderte Glutaminsäure ab. Insgesamt wurde die Glutaminsäure fast quantitativ zurückgewonnen.

6.) Umsetzung von Chloral mit Leucin

1.31 g (0.01 Mol) Leucin wurden mit 2.94 g (0.02 Mol) Chloral versetzt, wobei nach einigen Stunden eine gallertige Masse entstand. Nach Extraktion des Reaktionsproduktes mit wenig Wasser blieben 2.007 g einer Substanz vom Smp. 90-100° zurück. Beim Versuch, die Verbindung aus Äther/Petroläther umzukristallisieren, zersetzte sie sich in die Ausgangsstoffe.

II. Darstellung von Peptiden

1.) Darstellung von Glycylglycin

Umsetzung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons mit Glycinäthylester zum Formyl-glycylglycinäthylester

3.52 g (0.01 Mol) des Oxazolidons wurden in 15 ccm abs. Äther gelöst und mit 2.35 g (0.022 Mol) Glycinäthylester versetzt. Nach etwa zehn Minuten schied sich ein farbloses Öl ab, das nach mehrmaligem Digerieren abwechselnd mit Äther und Petroläther kristallin wird. Die Ausbeute betrug 1.73 g (91% d.Th.).

Die Verbindung kristallisiert in dünnen, seidig glänzenden Blättchen vom Smp. 65°. Sie ist sehr leicht löslich in Wasser, Alkohol und Essigester, mässig löslich in Äther. Die Substanz wurde durch einmaliges Umkristallisieren analysenrein erhalten.

3.849 mg Substanz: 2.219 mg H₂O 6.285 mg CO₂

4.138 mg Substanz: 0.565 ccm N₂ (22°/725 mm)

C₇H₁₂O₄N₂ (188.2)

Ber.: C 44.68 H 6.41 N 14.89

Gef.: C 44.56 H 6.45 N 15.07

Führt man die Reaktion in einer verdünnteren Lösung (50 ccm Äther) durch, so scheidet sich, allerdings erst nach einigen Stunden, der Formyl-glycyl-glycinäthylester in kristalliner Form ab.

Aus der ätherischen Mutterlauge wurde nach Abziehen des Äthers ein gelbes Öl erhalten. Bei Zugabe einiger Tropfen konz. Schwefelsäure wurde daraus Chloral abgespalten, das durch Mischschmelzpunkt identifiziert wurde.

Spaltung des Formyl-glycyl-glycinäthylesters
zum Glycyl-glycinäthylesterhydrochlorid

1 g des Formyl-glycyl-glycinäthylesters wurde in 15 ccm einer 1n abs. alkoholischen Salzsäure gelöst und zwei Stunden stehen gelassen. Beim Anreiben schieden sich Nadeln vom Smp. 181-182° ab. Das Filtrat wurde im Vakuumexsiccator eingengt, wobei nochmals die selben Kristalle ausfielen. Die Ausbeute an Glycyl-glycinäthylesterhydrochlorid betrug 1.07 g (96% d. Th.). Der Mischschmelzpunkt mit auf anderem Weg dargestelltem Glycyl-glycinäthylesterhydrochlorid ergab keine Depression.

Überführung des Glycyl-glycinäthylesterhydrochlorids in den freien Ester

1 g Glycyl-glycinäthylesterhydrochlorid, in 28 ccm einer 0.2n Lösung von Ammoniak in Chloroform suspendiert, wurde einige Minuten geschüttelt. Das ausgeschiedene Ammoniumchlorid wurde abgetrennt und das Chloroform sofort im Vakuum weitgehend abgezogen. Aus der konzentrierten Lösung schied sich bei Zugabe von Petroläther der Glycyl-glycinäthylester in Nadeln ab. Die Ausbeute betrug 0.75 g (92% d. Th.).

Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther lag der Smp. bei 84-85°. Der Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression.

3.972 mg Substanz: 2.594 mg H₂O 6.541 mg CO₂

4.189 mg Substanz: 0.658 ccm N₂ (24°/725 mm)

C₆H₁₂O₃N₂ (160.2)

Ber.: C 44.99 H 7.55 N 17.49

Gef.: C 44.93 H 7.31 N 17.22

Verseifung des Glycyl-glycinäthylesters zum Glycyl-glycin

1.404 g Glycyl-glycinäthylester wurden in wenig Wasser aufgeschlämmt und mit 8.76 ccm einer 1n Natronlauge (= 1 Äquivalent) versetzt. Nach 15 Minuten

wurden 8.76 ccm einer 1n Salzsäure hinzugegeben und die Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und das Glycyl-glycin mit abs. Alkohol gefällt. Die Ausbeute an reinem Dipeptid betrug 0.953 g (82% d.Th.). Zur Analyse wurde aus Wasser/Alkohol umkristallisiert. Das Glycyl-glycin erwies sich als chromatographisch rein. Es wurde mit Hilfe einer Testsubstanz chromatographisch identifiziert.

4.394 mg Substanz:	2.43 mg H ₂ O	5.99 mg CO ₂
2.938 mg Substanz:	0.562 ccm N ₂	(26°/717 mm)

C₄H₈O₃N₂ (132.2)

Ber.:	C	36.37	H	6.10	N	21.20
Gef.:	C	37.20	H	6.19	N	20.60

2.) Umsetzung des 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-oxazolidons-5 mit Glycinbenzylester zum Formyl-glycyl-glycinbenzylester

Darstellung des Glycinbenzylesters:

2.21 g (0.011 Mol) fein pulverisiertes Glycinbenzylesterhydrochlorid wurden mit 1.12 g (0.011 Mol) Triäthylamin versetzt. Das Gemisch wurde gründlich verrieben und vom schwerlöslichen Triäthylaminhydrochlorid abgetrennt. Anschliessend wurde mit wenig abs. Äther nachgewaschen und der Äther mit dem Filtrat vereinigt.

Umsetzung des Oxazolidons mit Glycinbenzylester

1.76 g (0.005 Mol) Oxazolidon wurden in wenig abs. Äther gelöst und mit einer ätherischen Lösung von 1.81 g (0.011 Mol) Glycinbenzylester versetzt. Im Lauf von zwölf Stunden schied sich ein gelbbraunes Öl ab. Nach Abdekantieren der ätherischen Schicht wurde das Öl zur Reinigung mehrmals mit Äther extrahiert. Darauf wurde das Öl in wenig Alkohol gelöst und von wenig ungelösten abgetrennt. Bei Zugabe von Äther zu der klaren Lösung schied sich eine pulvrige, gelbe Substanz vom Smp. 96-98° ab. Die Ausbeute betrug 0.876 g (70% d.Th.).

Die Verbindung ist löslich in Methanol und Essigester, schwerlöslich in Äther. Zur Analyse wurde aus Essigester/Äther umkristallisiert. Dabei schied sich die Substanz in rechteckigen, allerdings meist schlecht ausgebildeten, Kristallen ab.

4.674 mg Substanz:	2.40 mg H ₂ O	9.72 mg CO ₂
4.018 mg Substanz:	0.397 ccm N ₂	(28°/721 mm)

C₁₂H₁₄O₄N₂ (250.2)

Ber.:	C	57.59	H	5.63	N	11.19
Gef.:	C	56.75	H	5.75	N	10.64

3.) Darstellung von D,L-Alanyl-glycin

Umsetzung von 2-Trichlormethyl-3-chloralyl-4-methyl-oxazolidon-5
mit Glycinäthylester zum Formyl-D,L-alanyl-glycinäthylester

3.658 g (0.01 Mol) der Oxazolidonverbindung wurden in der erforderlichen Menge abs. Äther gelöst und mit 2.35 g (0.022 Mol) Glycinäthylester versetzt. Im Laufe von zwölf Stunden schieden sich nadelförmige Kristalle vom Smp. 91-92° ab. Die Ausbeute betrug 1.64 g (76% d.Th.).

Die Verbindung ist löslich in Wasser, Alkohol, Essigester und mässig löslich in Äther. Zur Analyse wurde aus Essigester umkristallisiert.

4.890 mg Substanz:	2.99 mg H ₂ O	8.48 mg CO ₂
3.442 mg Substanz:	0.432 ccm N ₂	(22°/729 mm)

C₈H₁₄O₄N₂ (202.2)

Ber.:	C	47.63	H	6.93	N	13.86
Gef.:	C	47.32	H	6.84	N	13.93

Spaltung des Formyl-D,L-alanyl-glycinäthylesters in das
D,L-Alanyl-glycinäthylesterhydrochlorid

2 g Formyl-D,L-alanyl-glycinäthylester wurden in 25 ccm einer 1n alkoholischen Salzsäure gelöst und 20 Stunden stehen gelassen. Nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum blieb ein schwach gelb gefärbtes Öl zurück. Dieses wurde zur Reinigung zweimal mit je einem ccm abs. Äther extrahiert und anschliessend im Vakuum vom noch anhaftenden Äther befreit. Die Ausbeute an D,L-Alanyl-glycinäthylesterhydrochlorid betrug 1.83 g (88% d.Th.).

Überführung des D,L-Alanyl-glycinäthylesterhydrochlorids in den freien Ester

Das oben erhaltene, ölige D,L-Alanyl-glycinäthylesterhydrochlorid (1.83 g) wurde in 40 ccm Chloroform gelöst und ein trockener Ammoniakstrom solange in die Lösung eingeleitet, bis das zunächst in fein verteilter Form ausgeschiedene Ammoniumchlorid ausflockte. Das Ammoniumchlorid wurde abgetrennt und das Chloroform im Vakuum vollständig abgezogen. Es blieb ein gelbes Öl zurück. Die Ausbeute betrug 1.39 g (92% d.Th.).

Verseifung des D,L-Alanyl-glycinäthylesters zum D,L-Alanyl-glycin

Zu 1.39 g D,L-Alanyl-glycinäthylester wurden 7.98 ccm einer 1n Natronlauge (= 1 Äquivalent) hinzugegeben. Nach 15 Minuten wurde mit 7.98 ccm einer 1n Salzsäure neutralisiert und die Lösung im Vakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und das Peptid mit abs. Alkohol gefällt. Zur Reinigung wurde das D,L-Alanyl-glycin aus Wasser/Alkohol umkristallisiert. Das Dipeptid erwies sich als chromatographisch rein. Es wurde mit Hilfe einer Testsubstanz chromatographisch identifiziert.

4.350 mg Substanz:	2.73 mg H ₂ O	6.56 mg CO ₂
4.025 mg Substanz:	0.700 ccm N ₂	(21°/716 mm)
C ₅ H ₁₀ O ₃ N ₂ (146.1)		
Ber.:	C 41.09	H 6.89 N 19.16
Gef.:	C 41.15	H 7.02 N 19.07

4.) Darstellung von L-Prolyl-glycin

Umsetzung des Oxazolidonderivates mit Glycinäthylester zum Formyl-L-prolyl-glycinäthylester

2.445 g (0.01 Mol) Oxazolidon wurden mit 1.18 g (0.011 Mol) Glycinäthylester in 80 ccm abs. Äther umgesetzt. Nach zwölf Stunden wurde die Lösung eingengt, wobei sich ein farbloses Öl abschied. Die Ausbeute betrug 1.98 g (87% d.Th.).

In einigen Fällen war die Reaktion nach zwölf Stunden noch nicht beendet. Es schied sich beim Einengen der Lösung unverändertes Oxazolidon in langen Nadeln ab. Hier wurde die zur Auflösung der Kristalle erforderliche Menge an abs. Äther hinzugegeben und nochmals einige Stunden stehen gelassen.

Der Formyl-L-propyl-glycinäthylester konnte durch Umfällen oder Digerieren mit den verschiedensten Lösungsmitteln nicht zur Kristallisation gebracht werden. Er wurde daher zur Reinigung mehrmals mit je einem ccm abs. Äther extrahiert und so zur Analyse gegeben.

4.358 mg Substanz:	2.82 mg H ₂ O	8.02 mg CO ₂
4.764 mg Substanz:	0.494 ccm N ₂	(23°/754 mm)
C ₁₀ H ₁₆ O ₄ N ₂ (228.2)		
Ber.:	C 52.62	H 7.06 N 12.27
Gef.:	C 50.22	H 7.24 N 11.86

Spaltung des Formyl-L-prolyl-glycinäthylesters
in L-Prolyl-glycinäthylesterhydrochlorid

0.832 g Formyl-L-prolyl-glycinäthylester wurden in 8 ccm einer 1n abs. alkoholischen Salzsäure gelöst und einen Tag stehen gelassen. Nach vollständigem Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum verblieben 0.827 g eines gelblichen Öls im Rückstand (96 % d.Th.).

Überführung des L-Prolyl-glycinäthylesterhydrochlorids in den freien Ester

0.832 g L-Prolyl-glycinäthylesterhydrochlorid wurden in 30 ccm Chloroform gelöst und ein trockener Ammoniakstrom solange eingeleitet, bis sich das ausfallende Ammoniumchlorid zusammenballte. Hierzu ist eine Einleitungszeit von einigen Minuten erforderlich. Nach Abtrennung des Ammoniumchlorids und Abziehen des Chloroforms im Vakuum blieb ein gelbliches Öl zurück. Die Ausbeute betrug 0.653 g (91 % d.Th.).

Verseifung des L-Prolyl-glycinäthylesters zum L-Prolyl-glycin

0.653 g L-Prolyl-glycinäthylester wurden mit 3.27 ccm einer 1n Natronlauge versetzt. Nach 15 Minuten wurde mit der selben Menge 1n Salzsäure das Peptid aus dem Natriumsalz in Freiheit gesetzt und die Lösung im Vakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und das L-Prolyl-glycin mit abs. Alkohol gefällt. Zur Reinigung wurde aus Wasser/Alkohol umkristallisiert. Die Ausbeute an Dipeptid betrug 0.474 g (84 % d.Th.). Das L-Prolyl-glycin wurde durch Papierchromatographie identifiziert. Es erwies sich als chromatographisch rein.

3.467 mg Substanz: 0.472 ccm N₂ (22°/729 mm)

C₇H₁₂O₃N₂·H₂O (190.2)

Ber.: N 14.86

Gef.: N 15.11

$[\alpha]_D^{20} = -22.68^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1.5; H₂O)

5.) Darstellung von Formyl-glycyl-glycylglycinäthylester

0.352 g (0.001 Mol) 2-Trichlormethyl-3-chloräthyl-oxazolidon-5 wurden in sehr wenig abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit einer Lösung von 0.324 g (0.0022 Mol) Glycyl-glycinäthylester in 15 ccm Tetrahydrofuran versetzt. Innerhalb von zehn Stunden schieden sich Blättchen vom Smp. 155-158° aus. Die Verbindung wurde aus Alkohol umkristallisiert, wobei der Smp. auf 164 bis 166° anstieg. Die Ausbeute betrug 0.221 g (90% d.Th.).

3.879 mg Substanz: 2.148 mg H₂O 6.287 mg CO₂

4.327 mg Substanz: 0.665 ccm N₂ (25°/725 mm)

C₉H₁₅O₅N₃ (245.2)

Ber.: C 44.08 H 6.15 N 17.13

Gef.: C 44.23 H 6.19 N 16.79

Literaturverzeichnis

- | | |
|--|---|
| 1. L. J. Simon | A. Ch. (7) 9, 490, 493
C. r. <u>147</u> , II, 1, 127 (1908). |
| 2. H. Pirzer | Universität München, Dissertation 1956. |
| 3. M. Herz | Universität München, Diplomarbeit 1956. |
| 4. K. Martin | Universität München, Dissertation 1955. |
| 5. Barthel - La Forge | Ind. Eng. Chem. <u>16</u> , 334 (1944). |
| 6. Bergmann, Miekeley u. Kann | Hoppe-Seylers Zeitschr.
f. physiolog. Ch. <u>146</u> , 247 (1929). |
| 7. L. Gastaldi u. V. Princivale | Gaz. <u>59</u> , 755 (1929). |
| 8. K. Ziegler u. Mitarb. | Annalen <u>551</u> , 95 (1942). |
| 9. Pinkus | Ber. <u>31</u> , 36 (1898). |
| 10. Neuberg u. Kansky | Bio. Z. <u>20</u> , 460 (1909). |
| 11. L. Schiener | Universität München, Diplomarbeit 1956. |
| 12. Finckelstein | Ber. <u>43</u> , 1529 (1910). |
| 13. Gattermann-Wieland | Die Praxis des org. Chemikers, S. 88. |
| 14. Denis | Am. <u>38</u> , 584 (1916). |
| 15. Deniges | Bl. (4) 5, 647 (1909) . |
| 16. H. Schäfer | Universität München, Diplomarbeit
unveröffentlicht. |
| 17. H. Lettre u. M. E. Fernholz | Z. physiol. Chem. <u>266</u> , 37 (1940). |
| 18. R. Schwyzer, B. Iselin u.
M. Feurer | Helv. Chim. Acta <u>38</u> , 69 (1955). |
| 19. B. Iselin u. R. Schwyzer | Helv. Chim. Acta <u>39</u> , 57 (1956). |
| 20. F. Weygand u. R. Reiter | Ber. <u>88</u> , 26 (1955). |

Lebenslauf

Ich wurde am 25. Juli 1927 als Sohn des Kaufmanns Anton Heiss und seiner Ehefrau Anna, geb. Wagner, in Nürnberg geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich 1938 in die Gisela-Oberschule in München ein. Im Juli 1943 wurde ich als Luftwaffenhelfer zur Wehrmacht einberufen. Nach Rückkehr aus der Kriegsgefangenschaft im August 1945 bereitete ich mich auf das Abiturrexamen vor, das ich 1947 an der Gisela-Oberschule in München ablegte. Im Wintersemester 1947/48 immatrikulierte ich mich an der Universität München. Das Diplomchemiker-Vorexamen legte ich 1951, das Hauptexamen 1954 ab. Im Anschluss daran begann ich unter Anleitung von Frau Prof. Dr. E. Dane mit der vorliegenden Doktorarbeit.

